

**UNIVERSITÉ MONTPELLIER II
SCIENCES ET TECHNIQUES DU LANGUEDOC**

THÈSE

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ MONTPELLIER II

Discipline : Biochimie, Chimie et Technologie des Aliments

École Doctorale : Sciences des Procédés – Sciences des Aliments

Présentée et soutenue publiquement

Par

Alexia PRADES

Le 15 décembre 2011

Titre

**DÉTERMINATION DE LA QUALITÉ DE L'EAU DE COCO
EN FONCTION DU STADE DE MATURATION DES NOIX ET
LORS DE SA STABILISATION PAR CHAUFFAGE OHMIQUE
ET FILTRATION MEMBRANAIRE**

Jury :

Mme	CABRAL Lourdès	Chargée de recherche EMBRAPA	Rapporteur
Mme	SALLANON Hugnette	Professeur Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse	Rapporteur
Mme	LAMELOISE Marie-Laure	Professeur AgroParisTech	Examineur
M.	PAIN Jean-Pierre	Professeur Université Montpellier II	Directeur de thèse
M.	DORNIER Manuel	Professeur Montpellier SupAgro	Co-Directeur de thèse
M.	NEMLIN Gnopo Jean	Chercheur CNRA	Membre Invité



Ce travail de thèse s'est déroulé au sein de l'Unité Mixte de Recherche *Démarche intégrée pour l'obtention d'aliments de qualité*, UMR Qualisud, dirigée par Dr. Max Reynes et Prof. Jean-Pierre Pain et, plus précisément, dans l'équipe des procédés de stabilisation et de transformation des produits agricoles d'origine tropicale, dirigée par Dr. Dominique Pallet. Le champ d'application des activités de cette UMR qui regroupe des chercheurs du CIRAD, de SupAgro-IRC, de l'UM2 et de l'UM1, est l'agroalimentaire, avec une forte prise en compte des problèmes liés à la stabilisation et à la transformation des aliments subtropicaux et tropicaux avec un objectif de développer une démarche intégrée pour la production et la préservation de produits et aliments de qualité organoleptique, sanitaire et nutritionnelle optimales. Les expérimentations se sont déroulées, pour une petite partie, dans les locaux de l'Université de Montpellier 2 (UM2) au laboratoire du Professeur J.P. Pain et en majeure partie au CIRAD, Centre de Coopération Internationale de Recherche Agronomique pour le Développement, à la Maison de la Technologie à Montpellier.

RÉSUMÉ

L'eau de coco, liquide transparent situé dans la noix de coco (*Cocos nucifera* L.), est une boisson tropicale rafraîchissante dont le marché est en pleine expansion. Ce jus de fruit possède des propriétés originales dues à sa composition en sels minéraux, sa faible teneur en sucres solubles et son arôme. Cependant, ses propriétés physico-chimiques ont été peu étudiées et sa stabilisation reste un défi technologique, notamment en raison de la présence de deux enzymes PPO et POD et de la thermosensibilité des composés aromatiques. Aussi ce travail s'attache, premièrement, à décrire les caractéristiques physicochimiques et le profil aromatique de l'eau de coco de cinq variétés récoltées à trois stades de maturité. A partir de ces données, un indice global de qualité a été construit. Il permet de prédire le potentiel de transformation en boisson de différentes variétés de cocotier. Deuxièmement, une étude de la dégradation de l'eau de coco à température ambiante tropicale (30°C) a permis de détecter les phases critiques du phénomène. Enfin, des essais de stérilisation de l'eau de coco ont été réalisés dans un réacteur batch de traitement ohmique et dans un pilote d'ultrafiltration avec des membranes de diamètres de pores 10, 20, 50 et 100 nm. Le chauffage ohmique a démontré sa capacité à inactiver les enzymes (barème de traitement optimal de 5 s à 140°C) mais il provoque des modifications du profil aromatique. L'ultrafiltration avec une membrane de diamètre de pores 20 nm permet d'obtenir des densités de flux intéressantes d'un point de vue économique, de retenir la totalité des enzymes mais il semble qu'une partie non négligeable des molécules de type ester, soit retenue.

Mots clés : cocotier, chauffage ohmique, ultrafiltration, composés volatils, maturité, qualité

ABSTRACT

Coconut water, the clear liquid located into the coconut fruit (*Cocos nucifera* L.) is a refreshing tropical beverage driving a valuable market expansion. This fruit juice exhibits original properties due to its specific mineral composition, its low content in soluble sugars, and its aroma. However, its physicochemical properties have been rarely investigated. Coconut water stabilization remains a technological challenge, in particular due to the presence of the two enzymes PPO and POD, and to the thermo-sensitivity of aromatic compounds. Thus, this work aimed first at describing the physicochemical characteristics and the aromatic profile of the coconut water of five varieties being collected at three stages of maturity. From these data, an overall raw material quality index was defined which will favor the prediction of the processing potential into beverage of a set of coconut varieties. Secondly, an investigation of the coconut water degradation at tropical ambient temperature (30°C) highlighted the critical stages of the phenomenon. Finally, some coconut water sterilization trials were carried out using two different techniques: an ohmic heater batch reactor, and an ultrafiltration pilot with 10, 20, 50, and 100nm membranes. The ohmic heating favored the inactivation of both POD and PPO enzymes (with an optimal 5s/140°C treatment), while inducing some modification of the aromatic profile. The 20nm ultrafiltration membrane permitted to obtain valuable densities of flux from an economic point of view, the full retention of the enzymes, whereas a significant amount of ester compounds seemed to be retained by the membrane.

Keywords : coconut, ohmic heating, ultrafiltration, volatile compounds, maturity, quality

TABLE DES MATIÈRES

LISTE DES FIGURES	2
LISTE DES TABLEAUX	5
NOMENCLATURE.....	7
GLOSSAIRE	8
I - INTRODUCTION.....	11
II - ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE.....	16
II.1. - LE COCOTIER	16
II.2. - L'EAU DE COCO	18
<i>Présentation en français.....</i>	<i>18</i>
<i>Article tel qu'accepté.....</i>	<i>19</i>
<i>Synthèse de l'article.....</i>	<i>58</i>
II.3. - LES PROCÉDES DE STABILISATION	59
II.3.1. - État de l'art des procédés de stabilisation de l'eau de coco.....	59
<i>Présentation en français.....</i>	<i>59</i>
<i>Article tel qu'accepté.....</i>	<i>60</i>
<i>Synthèse de l'article.....</i>	<i>86</i>
II.3.2.- Le chauffage ohmique.....	87
II.3.3.- Les traitements membranaires.....	93
II.4. - CONCLUSION DE L'ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE ET PROBLÉMATIQUE DE LA THÈSE	101
III - MATERIEL ET MÉTHODES.....	102
III.1. - MATÉRIEL VÉGÉTAL.....	102
III.2. - ANALYSES DE L'EAU DE COCO	103
III.2.1. - Préparation des échantillons.....	103
III.2.2. - Analyses courantes.....	104
III.2.3. - Analyses enzymologiques	106
III.2.4. - Analyse des sucres et polyols	107
III.2.5. - Analyse des sels minéraux.....	109
III.2.6. - Analyses microbiologiques.....	110
III.2.7. - Analyse des composés volatils.....	110
III.2.8. - Analyses spectrales en proche infrarouge.....	112
III.3. - INSTALLATIONS PILOTES	113
III.3.1. - Montage pour l'étude de la dégradation de l'eau de coco à température ambiante tropicale.....	113
III.3.2. - Réacteur à chauffage ohmique en mode batch.....	115
III.3.3. - Pilote de chauffage ohmique en mode continu.....	118
III.3.4. - Pilote d'ultrafiltration	120

III.4. - MODELISATION DE LA CINETIQUE DE DEGRADATION ENZYMATIQUE.....	125
III.5. - OUTILS STATISTIQUES	128
IV – RESULTATS ET DISCUSSION.....	129
IV.1. - INFLUENCE DE LA VARIETE ET DU STADE DE RECOLTE SUR LES PROPRIETES DE L’EAU DE COCO.....	129
<i>IV.1.1. - Variations des propriétés physicochimiques en fonction du stade de récolte et de la variété.....</i>	<i>129</i>
<i>IV.1.2. - Variations des activités enzymatiques en fonction du stade de récolte et de la variété..</i>	<i>133</i>
<i>IV.1.3. - Variations du profil aromatique en fonction du stade de récolte et de la variété.....</i>	<i>136</i>
<i>IV.1.4. - Construction d'un indice global de qualité</i>	<i>166</i>
<i>IV.1.5. – Conclusion partielle.....</i>	<i>169</i>
IV.2. - ETUDE DE LA DEGRADATION DE L’EAU DE COCO A TEMPERATURE AMBIANTE TROPICALE.....	171
<i>IV.2.1. - Évolution des propriétés de l'eau de coco conservée à température ambiante tropicale</i>	<i>171</i>
<i>IV.2.2. - Influence de la variété et du stade de récolte sur l'évolution des propriétés de l'eau de coco conservée à température ambiante tropicale</i>	<i>178</i>
<i>IV.2.3. - Conclusion partielle et discussion de synthèse.....</i>	<i>182</i>
<i>IV.2.4. - Suivi des paramètres de dégradation par Spectrométrie Proche InfraRouge</i>	<i>182</i>
<i>IV.2.5. - Résultats complémentaires</i>	<i>184</i>
<i>IV.2.6. - Conclusion partielle</i>	<i>191</i>
IV.3. - TRAITEMENT THERMIQUE DE L’EAU DE COCO PAR CHAUFFAGE OHMIQUE	193
<i>IV.3.1. - Caractéristiques du lot d'eau de coco traité.....</i>	<i>193</i>
<i>IV.3.2. - Cinétiques de dégradation de l'activité POD et évolution du profil aromatique</i>	<i>195</i>
<i>IV.3.3. - Résultats complémentaires - Impact du chauffage ohmique sur la qualité de l'eau de coco</i>	<i>223</i>
<i>IV.3.4. - Conclusion partielle</i>	<i>228</i>
IV.4. - TRAITEMENT MEMBRANAIRE DE L’EAU DE COCO.....	230
<i>IV.4.1. - Caractéristiques des lots d'eau de coco traitée.....</i>	<i>230</i>
<i>IV.4.2. - Influence du diamètre de pores des membranes sur la qualité de l'eau de coco.....</i>	<i>235</i>
<i>IV.4.3. - Essais exploratoires d'ultrafiltration d'eau de coco en mode concentration</i>	<i>250</i>
<i>IV.4.4. - Conclusion partielle</i>	<i>257</i>
V – CONCLUSION ET PERSPECTIVES	260
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	265
ANNEXES	285

*à Olivier,
à Margot et Quentin,
à ma famille et mes amis.*

Remerciements

Ce mémoire est l'aboutissement d'un travail effectué au Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement (CIRAD) de Montpellier, au sein de l'Unité Mixte de Recherche Qualisud, sous la direction de Monsieur le Professeur Jean-Pierre Pain de l'Université Montpellier II et la co-direction de Monsieur le Professeur Manuel Dornier de SupAgro Montpellier, qui ont accepté d'encadrer ce travail, qu'ils en soient ici vivement remerciés.

Je tiens à exprimer ma gratitude à Monsieur Max Reynes, Directeur de l'UMR Qualisud, pour m'avoir autorisé à réaliser ces travaux au sein de l'équipe Procédés de stabilisation et de transformation. Que Monsieur Dominique Pallet, animateur de l'équipe de recherche soit également remercié pour sa bienveillante attention et son appui lors de la préparation de ma soutenance.

Que Madame Lourdes Cabral, chercheur à l'EMBRAPA et Madame Huguette Sallanon, Professeur à l'Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse, soient vivement remerciées pour avoir accepté d'être rapporteurs de ce travail ainsi que Monsieur Jean Gnopo NEMLIN, Chef de programme Conservation et Transformation des Produits Agricoles au CNRA, Abidjan, pour sa participation au jury et son éclairage sur la filière cocotier en Côte d'Ivoire.

Ce travail a été initié dans le cadre d'un partenariat entre le CIRAD et le Centre National de Recherche Agronomique de la Côte d'Ivoire. Merci à Monsieur Jean-Louis Konan, Chef de programme cocotier, et au Directeur de la Station de Recherche Marc Delorme pour la confiance qu'ils m'ont accordée durant toute la durée de ce travail et les échantillons qu'ils ont récoltés et confiés à mes soins pour analyses. Des remerciements appuyés pour Mme Rebecca ASSA-YAO, chercheur à l'Université de Cocody, qui a contribué à faire avancer les travaux de cette thèse au travers d'un séjour au Cirad. Qu'elle soit assurée de toute ma reconnaissance pour sa fidèle collaboration et de toute mon amitié.

Tous mes remerciements à M. Renaud Boulanger, chercheur au Cirad, pour son appui lors des essais de mise au point de l'analyse des composés aromatiques et ses discussions enrichissantes autour de la SPME lors de la rédaction des publications.

C'est avec un vif plaisir que je remercie tous les techniciens de l'équipe et tout particulièrement Najat Talha pour son travail à mes côtés ces dernières années, Sonia Bouquet pour son coup de main en plein été, avec une pensée spéciale pour Daniel Dijoux, qui nous a quittés trop vite et m'avait transmis son savoir-faire en HPLC ionique. Merci à Julien, Denis, Pierrot, Marie-Christine pour leur aide lors des arrivages de noix de coco. Merci à Rémi Marcouire, technicien de l'Université de Montpellier 2, pour son aide lors de mes « bricolages » sur le réacteur de chauffage ohmique. Merci à Doudjo Soro, thésard de l'UMR Qualisud et enseignant à L'Institut National Polytechnique Félix Houphouët-Boigny de Yamoussoukro, pour son coup de main sur le pilote d'ultrafiltration. Merci également aux stagiaires pour leurs contributions respectives et pour avoir égayé de leur présence les labos et la halle de technologie : Nafissatou, Martin, Jean-Marie, Driss, Jean-Ulysse...Merci à Marie-Pierre Obède pour son aide lors de l'édition de ce manuscrit. J'associe à cette thèse tous les personnels et stagiaires des différents laboratoires qui ont contribué sous une forme ou une autre à la bonne réalisation des travaux.

Un grand merci également à Fernando Abreu, chercheur à l'EMBRAPA, pour les discussions autour de l'eau de coco et les échantillons d'eau de coco préparés et transportés depuis le Brésil. Fernando connaît certainement mieux que moi l'eau de coco et est embarqué sur le même bateau. Avec l'aide de ta musique, Fernando, tu arriveras toujours à bon port.

Toute ma reconnaissance et ma sympathie à mes collègues de la « pause café » (ils se reconnaîtront) pour les rires, la bonne humeur et les bons moments passés lors de ces instants de décompression.

Que mes amis soient ici remerciés pour leur soutien indéfectible, tout particulièrement ces derniers temps. Sachez que vos grands « coups d'harmattan », vos « bols d'énergie » et vos « pensées positives » m'ont portée jusqu'au bout.

Enfin, que ma famille, plus spécialement Olivier, mes enfants et mes parents me pardonnent mon manque de disponibilité, mes absences, mes moments de fatigue ou de doute, tous ces moments où un simple sourire, un petit mot de leur part, ont su me redonner le courage et l'envie de continuer.

Liste des Figures

Figure 1. Répartition des références « cocotier/procédés » en fonction du produit étudié (source OVID, n = 951 de 1972 à 2005).....	13
Figure 2. Cocotier et noix de coco	16
Figure 3. Régime de noix de coco et coupe longitudinale d'un fruit immature (a) et mature (b)	17
Figure 4. Schéma de principe du chauffage ohmique en batch (a), en mode continu transverse (b) et en mode continu colinéaire (c)	89
Figure 5. Différents types de traitements membranaires à gradient de pression.....	95
Figure 6. Modes de filtration frontale et tangentielle	96
Figure 7. Collecte des noix de coco	102
Figure 8. Prélèvement de l'eau de coco sur une noix immature importée de Thaïlande	104
Figure 9. Chromatogramme des sucres solubles de l'eau de coco de la variété GOA, au stade de maturité de 9 mois	108
Figure 10. Chromatogramme des composés volatils d'eau de coco analysée par HS-SPME-GC/FID.....	111
Figure 11. Dispositif simplifié de suivi de dégradation de l'eau de coco à température contrôlée en mode aérobie.....	114
Figure 12. Réacteur à chauffage ohmique fonctionnant en mode batch et son système de collecte d'échantillons pour analyse en mode SPME	115
Figure 13. Schéma de principe du pilote de chauffage ohmique en continu	119
Figure 14. Pilote utilisé en mode ultrafiltration	121
Figure 15. Projection des individus sur le plan factoriel 1x2 de l'analyse en composantes principales des eaux de coco de 5 variétés de cocotiers récoltées à trois stades de maturité. 129	
Figure 16. Chromatogramme des sucres solubles de l'eau de coco de la variété GOA récoltée au stade de maturité de 9 mois	130
Figure 17. Teneur en polyols, sucres solubles et indice de saveur sucrée (SI, Sweet Index) d'eaux de coco de cinq variétés (GOA, PB121, NJM, NVE, NVT) récoltées à trois stades de maturité : 7 mois (a), 8 mois (b) et 9 mois (c)	131
Figure 18. Poids de l'eau de coco et pourcentage du poids de l'eau de coco par rapport au poids de la noix de coco (non débouillées) en fonction des variétés de cocotiers et des stades de récolte	132

Figure 19. Activité des polyphénoloxydases et de la peroxydase de l'eau de coco des cinq variétés de cocotiers GOA, PB121, NJM, NVE et NVT en fonction de leur stade de récolte : 7, 8 et 9 mois	134
Figure 20. Rapport entre les activités PPO et POD de l'eau de coco des cinq variétés de cocotiers GOA, PB121, NJM, NVE et NVT et de variétés inconnues du Brésil et du Costa Rica récoltées au stade de maturité de 8 mois.....	135
Figure 21. Evolution de l'indice global de qualité (IGQ) de l'eau de coco de cinq variétés de cocotiers (GOA, PB121, NJM, NVE et NVT) en fonction du stade de récolte. L'indice est basé sur la mesure de trois paramètres physico-chimiques.....	167
Figure 22. Evolution de l'indice global de qualité enrichi (IGQ E) de l'eau de coco de cinq variétés de cocotiers (GOA, PB121, NJM, NVE et NVT) en fonction du stade de récolte...	168
Figure 23. Évolution du pH et de l'extrait sec soluble de l'eau de coco de la variété NVE récoltée à 7 et 9 mois au cours d'une conservation en conditions contrôlées : mode aérobie isotherme à 30°C	172
Figure 24. Évolution de l'acidité titrable et de la turbidité de l'eau de coco de la variété NVE en fonction du temps de conservation en conditions aérobie isotherme (30°C) et du stade de maturité à la récolte (7 et 9 mois)	173
Figure 25. Évolution de la teneur en oxygène dissous, de l'acidité titrable et du pH de l'eau de coco de la variété NVE récoltée à 7 mois, placée en conditions de conservation aérobie isotherme (30°C)	174
Figure 26. Évolution de la teneur en oxygène dissous, de l'acidité titrable et du pH de l'eau de coco de la variété NVE récoltée à 9 mois, placée en conditions de conservation aérobie isotherme (30°C)	174
Figure 27. Résultats des analyses de (a) flore mésophile totale et (b) levures des prélèvements d'eau de coco de la variété NVE récoltée aux stades de 7 et 9 mois effectuées à 0, 22, 27 et 49 heures de fermentation spontanée	176
Figure 28. Évolution de l'activité résiduelle des polyphénoloxydases dans l'eau de coco de la variété NVE récoltée à 7 et 9 mois et conservée à 30°C en mode aérobie	177
Figure 29. Évolution de la concentration en oxygène dissous et du pH de l'eau de coco des noix de cinq variétés de cocotiers GOA, PB121, NJM, NVE et NVT récoltées à 7, 8 et 9 mois et conservée pendant 21h à 30°C	180
Figure 30. ACP des données physico-chimiques du suivi de dégradation en conditions isothermes et aérobies (30°C), de l'eau de coco de la variété NVE récoltée à 7 mois entre 0 et 21h. Projection des variables et des individus sur les deux premières composantes principales (biplot)	184
Figure 31. ACP des données physico-chimiques du suivi de dégradation suivi de dégradation en conditions isothermes et aérobies (30°C) de l'eau de coco de la variété NVE récoltée à 9 mois. Projection des variables et des individus sur les deux premières composantes principales (biplot)	185

Figure 32. ACP des données physico-chimiques du suivi de dégradation en conditions isothermes et aérobies (30°C) de l'eau de coco de la variété NVE récoltée à 9 mois entre 0 et 21h (données J1). Projection des variables et des individus sur les deux premières composantes principales.....	186
Figure 33. Spectres bruts d'eau de coco issue de la variété NVE récoltée à 7 mois enregistrés au cours du suivi de dégradation en mode aérobie isotherme (30°C)	187
Figure 34. Projection des individus sur les première et deuxième composantes de l'ACP des spectres de l'eau des noix de coco de la variété NVE récoltée à 7 mois. Spectres réalisés au cours du suivi de dégradation de l'eau de coco en conditions isothermes (30°C) entre 0 et 27h (J1+J2)	188
Figure 35. Projection des individus sur les première et deuxième composantes de l'ACP des spectres de l'eau des noix de coco de la variété NVE récoltée à 7 mois. Spectres réalisés au cours du suivi de dégradation de l'eau de coco à température constante (30°C) entre 0 et 21 heures (J1)	189
Figure 36. Projection des individus sur les première et deuxième composantes de l'ACP des spectres de l'eau des noix de coco de la variété NVE récoltée à 9 mois. Spectres réalisés au cours du suivi de dégradation de l'eau de coco à température constante (30°C) en fonction du temps (J1 = 0 à 6h, J2 = 22 à 28h, J3 = 46 à 49h)	190
Figure 37. Pourcentages des familles de composés volatils de l'eau de coco du lot CO (NVT Thaïlande) et des eaux de coco de la même variété récoltée en Côte d'Ivoire (RCI) à 7, 8 et 9 mois de maturité.....	194
Figure 38. Cinétique de formation de la 3-pentèn-2-one au cours du chauffage ohmique de l'eau de coco immature	223
Figure 39. Evolution des teneurs en sucres solubles (Fru = fructose, Glu = glucose, Sac = saccharose) et de l'indice de saveur sucrée (IS) résiduels au cours du chauffage ohmique de l'eau de coco immature (phase de montée en température comprise : t_0 de la phase isotherme à 26 ± 2 s)	225
Figure 40. Chromatogrammes en phase gazeuse de l'eau de coco des lots TM1 (NVT Thaïlande) et TM2 (NVJe du Brésil) après microextraction en phase solide des composés volatils	233
Figure 41. Répartition des composés volatils de l'eau de coco immature des lots TM1 (NVT Thaïlande) et TM2 (NVJe du Brésil)	234
Figure 42. Evolution de la densité de flux de perméat en fonction du temps lors de l'ultrafiltration d'eau de coco immature du lot TM1 à 30°C avec des membranes de diamètre de pores 10, 20, 50 et 100 nm en mode recyclage total	236
Figure 43. Densité de flux de perméat d'eau de coco du lot TM1 filtrée sur des membranes de diamètre de pores de 10, 20, 50 et 100 nm à 30°C en mode recyclage total.....	237

Figure 44. Taux de rétention (%) des sucres solubles, polyols et indice de saveur sucrée de l'eau de coco du lot TM1 après ultrafiltration sur membranes de diamètre de pores de 10, 20, 50 et 100 nm à 30°C en mode recyclage total.....	241
Figure 45. Répartition des familles de composés volatils de l'eau de coco immature du lot TM1 avant et après ultrafiltration sur membranes de diamètres de pores 10, 20, 50 et 100 nm à 30°C en mode recyclage total.....	244
Figure 46. Taux de rétention des familles chimiques de composés volatils de l'eau de coco immature du lot TM1 après ultrafiltration sur membranes de diamètre de pores 10, 20, 50 et 100 nm à 30°C en mode recyclage total.....	245
Figure 47. Pourcentage de pertes de familles chimiques de composés volatils dans le rétentat de l'eau de coco immature après ultrafiltration sur membranes de pores de 10, 20, 50 et 100 nm à 30°C en mode recyclage total.....	246
Figure 48. Projection des individus sur les axes 1 et 2 de l'ACP des surfaces standardisées des composés volatils de l'eau de coco du lot TM1 avant et après ultrafiltration sur membranes de diamètre de pores 10, 20, 50 et 100 nm à 30°C en mode recyclage total	247
Figure 49. Projection des variables sur les axes 1 et 2 de l'ACP des surfaces standardisées des composés volatils de l'eau de coco du lot TM1 avant et après ultrafiltration sur membranes de diamètre de pores 10, 20, 50 et 100 nm à 30°C en mode recyclage total	248
Figure 50. Evolution de la densité de flux de perméat en fonction du facteur de réduction volumique (FRV) durant l'ultrafiltration de l'eau de coco immature du lot TM2 sur des membranes de diamètre de pores 20 nm à 20°C et 30°C à une pression moyenne de 4 bar..	251
Figure 51. Pressions transmembranaires (P_{tm}) observées lors de essais d'ultrafiltration d'eau de coco immature du lot TM2 sur des membranes de diamètre de pores 20 nm à 20°C et 30°C en mode FRV croissant	252
Figure 52. Evolution des densités de flux et de la masse d'ESS de l'eau de coco du lot TM2 durant l'ultrafiltration sur membrane de diamètre de pores 20 nm à 20°C et 30°C en mode FRV croissant.....	255
Figure 53. Taux de rétention des familles de composés volatils de l'eau de coco du lot TM2 après ultrafiltration sur membrane de diamètre de pores 20 nm à 20°C et 30°C en mode FRV croissant.....	256
Figure 54. Pertes en composés volatils du rétentat de l'eau de coco filtrée sur membrane de diamètre de pores 20 nm à 30°C en mode FRV croissant.....	257
Figure 55. Photos du réacteur à chauffage ohmique avant montage (a), en fonctionnement (b) et système de collecte de l'échantillon (c)	287
Figure 56. Photos du pilote de chauffage ohmique fonctionnant en mode continu (a) et cellule de chauffage ohmique (b)	287
Figure 57. Photo du pilote de traitement membranaire	288

Liste des tableaux

Tableau 1. Types de membranes	94
Tableau 2. Mesures et analyses effectuées sur l'eau de coco	105
Tableau 3. Composition du standard externe utilisé en HPLC-DAP	108
Tableau 4. Coefficients de variation et intervalles de confiance des analyses de sucres solubles de l'eau de coco par Chromatographie Ionique liquide Haute Performance en conditions de répétabilité (n=3) et de reproductibilité (jours et opérateurs différents)	109
Tableau 5. Calcul des densités de flux, pressions transmembranaires et perméabilité à l'eau selon la position des membranes	123
Tableau 6. Seuil minimum acceptable et poids arbitraire attribués aux trois paramètres <i>i</i> servant à la construction de l'indice de qualité de l'eau de coco immature	167
Tableau 7. Seuil minimum acceptable et poids arbitraire attribués aux cinq paramètres <i>i</i> servant à la construction de l'indice de qualité enrichi de l'eau de coco immature	168
Tableau 8. Caractéristiques du lot d'eau de coco CO	193
Tableau 9. Extrait sec soluble et acidité titrable de l'eau de coco immature du lot CO avant et après traitement par chauffage ohmique	227
Tableau 10. Concentration en sels minéraux de l'eau de coco du lot CO avant et après traitement par chauffage ohmique (mg.L ⁻¹)	228
Tableau 11. Caractéristiques des lots d'eau de coco TM1 et TM2	231
Tableau 12. Modèles décrivant l'évolution de la densité de flux en fonction du type de colmatage	238
Tableau 13. Coefficients de régression des équations linéarisées des modèles de colmatage établis pour l'ultrafiltration de l'eau de coco immature du lot TM1 sur les membranes de diamètre de pores 10, 20, 50 et 100 nm à 30°C en mode recyclage total	239
Tableau 14. Caractéristiques physicochimiques de l'eau de coco immature (lot TM1) avant et après ultrafiltration sur membranes de diamètre de pores 10, 20, 50 et 100 nm à 30°C en mode recyclage total	242
Tableau 15. Taux de rétention des activités enzymatiques PPO et POD après ultrafiltration de l'eau de coco du lot TM1 sur membranes de diamètre de pores 10, 20, 50 et 100nm à 30°C en mode recyclage total.....	243
Tableau 16. Caractéristiques physico-chimiques de l'eau de coco du lot TM2 filtrée sur des membranes de diamètre de pores 20 nm à 20°C et 30°C en mode FRV croissant	253
Tableau 17. Effet de la température sur le taux de rétention des activités enzymatiques PPO et POD de l'eau de coco du lot TM2 filtrée sur membrane de diamètre de pores 20 nm à 20°C et 30°C en mode FRV croissant	255

Tableau 18. Caractéristiques physicochimiques de l'eau de coco des variétés GOA (Grand Ouest Africain), PB121 (Port-Bouët121, hybride issu d'un croisement NJM x GOA), NJM (Nain Jaune de Malaisie), NVE (Nain Vert de Guinée Equatoriale), NVT (Nain Vert de Thaïlande) aux trois stades de récolte 7, 8 et 9 mois : lot EVM 285

Tableau 19. Caractéristiques physicochimiques de l'eau de coco de la variété NVE (Nain Vert de Guinée Equatoriale) aux stades de récolte 7 et 9 mois : Lot ES..... 286

Nomenclature

A₀ : activité enzymatique initiale au temps t_0 (U.mL⁻¹)

A : activité enzymatique (U.mL⁻¹)

D : temps de réduction décimale (min)

ESS : extrait sec soluble (g.kg⁻¹)

F₀ : valeur stérilisatrice (min)

FRV : facteur de réduction volumique

J_p : Densité de flux de perméat (L.h⁻¹.m⁻²)

P_{tm} : Pression transmembranaire (bar)

R : taux de rétention d'un soluté, d'une molécule ou d'une activité enzymatique lors d'une opération de filtration (%)

SI : sweet index ou indice de saveur sucrée

SST : sucres solubles totaux (g.L⁻¹)

S_{tot} : Aire totale des pics des composés volatils de l'eau de coco (unité arbitraire)

S_{is} : Aire standardisée des pics des composés volatils de l'eau de coco

t : temps (s)

T : température (°C)

z : différence de température nécessaire à une division par 10 de D (°C)

Lettres grecques

α : facteur de forme du modèle de Weibull

β : facteur d'échelle du modèle de Weibull (temps^{-α})

ρ : masse volumique (kg.m⁻³)

μ : viscosité (Pa.s)

σ : conductivité électrique (S.m⁻¹)

Glossaire

ACP : Analyse en Composantes Principales

Chauffage ohmique ou chauffage par effet Joule : technique qui consiste à chauffer un produit par passage de courant

CIRAD : Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement

CNRA : Centre National de la Recherche Agronomique de Côte d'Ivoire

CO : chauffage ohmique

COGENT : Coconut Genetic Resources Network

Cocotier Grand : variété de cocotier à croissance rapide, allogame

Cocotier Nain : variété de cocotier à croissance lente, autogame

GC ou [CPG] : *Gas Chromatography* ou Chromatographie en Phase Gazeuse

DA : distance aromatique

Eau de coco : liquide transparent situé à l'intérieur de la noix de coco

EMBRAPA : Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

EMPARN : Empresa de Pesquisa Agropecuária do Rio Grande do Norte

FAO : Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture

FID ou [DIF] : *Flame Ionization Detection* ou Détection à Ionisation de Flamme

HPLC (ou HPIC ou HPAE) ou [CLHP] : *High Performance Liquid Chromatography* ou Chromatographie Liquide Haute Performance de type ionique

Hybride : variété de cocotier issue, le plus souvent, d'un croisement entre cocotier Grand et cocotier Nain

IGQ et IGQE : Indice Global de Qualité et Indice Global de Qualité Enrichi

J1 et J2 : Jour 1 et Jour 2

Maturité : stade de développement du régime et donc des noix de coco juste avant la récolte

MS ou [SM] : *Mass Spectrometry* ou Spectrométrie de Masse

POD : peroxydase

PPO : polyphénoloxydase

PAD ou [DAP] : *Pulsed Amperometry Detection* ou Détection par Ampérométrie Pulsée

Perméabilité : aptitude d'une membrane à se laisser traverser par un fluide

RCI : République de Côte d'Ivoire

NIRS ou [SPIR] : *Near InfraRed Spectroscopy* ou Spectrophotométrie Proche InfraRouge

SPME ou [MEPS] : *Solid Phase MicroExtraction* ou MicroExtraction en Phase Solide

Sélectivité (d'une membrane) : définie par un seuil de coupure ou « cut off » et un taux de rétention

Seuil de coupure ou « cut off » : masse molaire correspondant à une rétention supérieure à 90%

Taux de rétention : proportion de molécules retenues par la membrane par rapport à la concentration de ces molécules dans la solution d'alimentation

Ultrafiltration ou UF : technique séparative utilisant une membrane et un gradient de pression pour séparer les solutés d'un mélange

UM2 : Université de Montpellier 2

Abbreviations des noms de cultivars des cocotiers

ADOT : Andaman Ordinary Tall

AROD : Aromatic Dwarf

Arsik. Tall : Arsikere Tall

BDRT : Bodiri Tall

CGD : Chowgat Green Dwarf

COD : Chowgat Orange Dwarf (Ker.= Kerala, Kas.= Kasaragod, Kar.=Karnataka)

CODxWCT : Chowgat Orange Dwarf x West Coast Tall

CRD : Cameroon Red Dwarf

CYD : Sri Lanka Yellow Dwarf

EGD : Equatorial Guinea Green Dwarf

FJLT : Fiji Lontongwan Tall

GB : Gangabondam Tall

GBGD : Gangabondam Green Tall

GOA : Grand Ouest Africain ou **WAT** (West African Tall)

GUCT : Guam III Tall

Jam. San. T : Jamaica Sanblas Tall

KTOD : Kenthali Orange Dwarf

LCTxCOT : Laccadive Ordinary Tall x Chowgat Orange Dwarf

LCTxGBGD : Laccadive Ordinary Tall x Gangabondam Green Tall

MLT : Malayan Tall

MOD : Malayan Orange Dwarf (1=Karnataka, India; 2=Kasaragod, India)

MYD : Malayan Yellow Dwarf (1=Karnataka, India; 2=Côte d'Ivoire; 3=Kerala, India)
également appelé **NJM** : Nain Jaune de Malaisie
MYDxWAT : Malayan Yellow Dwarf x West African Tall *ou* **NJMxGOA** (Nain Jaune de Malaisie x Grand Ouest Africain *également appelé* **PB121+** : Port-Bouët121 amélioré
NGAT : New Guinea Tall
PB121+ : Port-Bouët121 amélioré, hybride NJMxGOA
PGD : Pumilla Green Dwarf ou Sri Lanka Green Dwarf
PHOT : Philippines Ordinary Tall
RTB : Rath Thembili ou King Coconut
SLBD : Sri Lanka Brown Dwarf
SLRD : Sri Lanka Red Dwarf
SPIT : Spikeless Tall
TIT : Tiptur Tall
WAT : West African Tall ou **GOA** (Grand Ouest Africain)
WCT : West Coast Tall
WCTxCOD : West Coast Tall x Chowgat Orange Dwarf
WCTxGBGD : West Coast Tall x Gangabondam Green Tall
WCTxMYD : West Coast Tall x Malayan Yellow Dwarf
NVE : Nain Vert de Guinée Equatoriale
NVT : Nain Vert de Thaïlande ou Nain Vert Aromatique

INTRODUCTION

I - Introduction

La culture du cocotier est largement répandue sous les tropiques. La plante pérenne tropicale et ses dérivés contribuent à faire vivre plusieurs millions de personnes dans le monde. Plus de 80% des surfaces plantées de cocotier se situent en Asie (Inde, Philippines, Indonésie, Sri Lanka, Thaïlande...). Le reste se répartit entre l'Afrique, l'Amérique latine, l'Océanie et les Caraïbes. Selon la base de données de la FAO consultée en 2010, l'Asie reste le principal producteur de noix de coco avec 83,5% de part mondiale. La production asiatique est concentrée sur trois pays : 19,5 millions de tonnes en Indonésie, 15,3 millions de tonnes aux Philippines et 10,9 millions de tonnes en Inde en 2008.

Les plantations de cocotiers de plus de 4 ha sont extrêmement rares. L'immense majorité des producteurs disposent en moyenne de 1 ha, ce qui représente environ une centaine d'arbres. Les rendements annuels de l'ordre de 5 tonnes de noix/ha stagnent depuis plusieurs années, en baisse sensible en Afrique et dans les Caraïbes, en légère augmentation en Amérique latine. Le débouché principal du cocotier, l'huile de coprah (huile issue de l'amande séchée puis triturée), voit son marché se contracter. L'huile est remplacée par les huiles de palme, de palmiste, plus rentables, ou des huiles issues de graines tempérées modifiées génétiquement. La demande diminuant, les planteurs délaissent leurs cocoteraies vieillissantes et ne replantent plus. Les exploitations changent d'aspect et le cocotier commence lentement à s'effacer du paysage de certaines zones intertropicales.

Pourtant, la plante, capable de s'adapter à des conditions édapho-climatiques extrêmes (sable, sel, vents violents) est parfois la seule solution agronomique envisageable pour des zones côtières ou insulaires. Associée à des plantes amylacées robustes (taro, manioc...), elle permet à une population particulièrement isolée et pauvre d'équilibrer son alimentation et de gagner sa vie grâce à la vente de coprah (amande extraite de la noix et séchée). Peu exigeant, le cocotier pousse facilement sans engrais ni pesticides. Cette culture naturellement « bio » est également source de matières premières renouvelables : les feuilles servent à faire des toits, des murs et des palissades. Les fibres de la noix peuvent être tressées pour fournir cordages et tapis. La coque est un très bon combustible et peut être transformée en charbon. L'huile issue de l'amande est une source d'énergie importante, non seulement en tant qu'aliment mais aussi en tant que carburant. Préparée correctement et utilisée dans des moteurs adaptés, elle constitue un combustible renouvelable. La même huile, extraite dans des conditions maîtrisées de pression à froid, fournit un produit de qualité appelée « huile vierge de coco » dont les propriétés nutraceutiques ont été étudiées (Nevin et Rajamohan, 2006).

L'enjeu de préservation de cette filière est immense. Dix millions de petits planteurs aux faibles revenus cultivent 96% de la surface plantée en cocotiers. Grâce à leurs noix disponibles tout au long de l'année, les cocotiers constituent souvent l'essentiel du patrimoine familial. Ils marquent les limites des terres et se transmettent de père en fils. Fortement ancré dans la culture asiatique et polynésienne, les fruits du cocotier, aussi appelé « arbre de vie », sont consommés quotidiennement sous forme de lait (amande râpée et pressée) ou d'eau de boisson. La plante fournit aussi des offrandes pour les cérémonies religieuses.

Les savoir-faire des populations qui vivent avec cette plante depuis des siècles sont encore aujourd'hui très peu étudiés et recensés. Au-delà de la plante oléagineuse, le cocotier entre dans la fabrication de nombreux produits artisanaux. Destinés au marché local ou à l'autoconsommation, ils sont transformés à proximité de l'exploitation familiale. Cependant, produits à l'aide d'outils peu performants, ils souffrent souvent d'une qualité instable. Leur faible valeur ajoutée reste un des facteurs limitant le développement de ces filières. De plus, la disparition de certains usages du cocotier liés à l'importation de matières transformées de substitution (cordes en synthétique, tôle ondulée...) contribue inexorablement à la disparition de certaines variétés et à la diminution du potentiel d'amélioration génétique de l'espèce.

La recherche sur le cocotier doit donc contribuer à faire connaître et préserver la multitude de ses usages de façon à ouvrir d'autres marchés aux producteurs. La diversification des débouchés contribuera également à préserver la biodiversité du cocotier. Cette recherche existe mais la communauté scientifique de la filière est peu visible car elle est dispersée sur plusieurs continents et progresse lentement du fait de son nombre restreint d'acteurs.

Ce travail de thèse s'inscrit donc dans un objectif plus global de relance de la filière cocotier en vue de fournir de nouveaux débouchés aux producteurs et de valoriser la biodiversité de cette plante tropicale emblématique. Le choix du sujet et son orientation ont été guidés par les résultats d'une étude bibliométrique réalisée en 2005 et dont l'objectif était de répondre à la question : quelles recherches ont été menées sur les produits du cocotier depuis 30 ans?

Pour y répondre, nous avons interrogé la base de données OVID entre les années 1972 et 2005. Les mots clés ayant servi aux interrogations sont restés volontairement simples : *coconut and processing and Cocos nucifera*. Ainsi, durant les 30 dernières années, on compte 951 publications sur la transformation du cocotier dont 575 publications sur l'amande (partie comestible de la noix), soit 19 publications par an en moyenne.

Par comparaison, le nombre de publications annuelles sur graines de palmiste est en moyenne de 15, de 77 sur colza, de 152 sur palme et de 172 sur olive. La figure 1 présente la répartition des publications par type de produit fini issu de la transformation du cocotier.

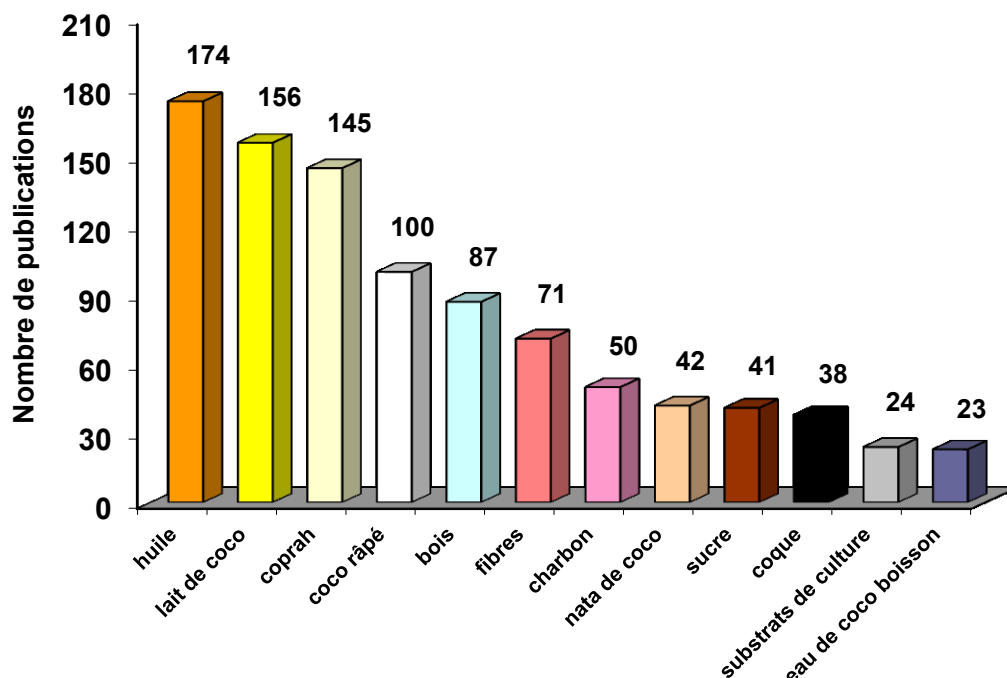


Figure 1. Répartition des références « cocotier/procédés » en fonction du produit étudié
(source OVID, $n = 951$ de 1972 à 2005)

Les quatre produits que l'on trouve sur le marché international : coprah, huile de coprah, lait de coco et coco râpé se partagent, en toute logique, les premières places du classement. Après les produits d'exportation, viennent les publications sur les usages liés à l'énergie (bois, charbon) puis apparaissent des produits un peu moins connus mais dont les marchés se sont récemment développés en Asie : le *nata de coco* (gel de cellulose produit par fermentation de l'eau de coco) et le sucre (ou les alcools) issu de la sève. Très peu de références concernent les produits à très forte valeur ajoutée comme les substrats de culture (24), l'eau de coco (23) ou l'huile vierge de coco (4 références sur 174 pour huile). Ces trois produits sont pourtant présentés par les acteurs de la filière comme des produits d'avenir (Singh, 2003).

L'eau de coco, bien que possédant des spécificités intéressantes, reste cantonnée à des marchés nationaux ou régionaux (Brésil, Asie). La stabilisation de ce jus de fruit particulier pose encore de nombreux problèmes techniques et freine son développement. Des recherches bibliographiques complémentaires sur d'autres bases de données (base Agritrop du Cirad et

FSTA) fournissent un total de 72 références sur l'eau de coco, s'échelonnant de 1952 à 2005. Les références sont un peu plus nombreuses, en moyenne 2,5 par an, depuis le début des années 1990. Les années 2000 marquent un autre palier avec 3,3 publications par an. En 2004, ce sont les chercheurs brésiliens qui ont le plus publié sur ce thème (4 références sur 6).

Les résultats de l'étude bibliométrique montrent que la communauté des chercheurs ne reste pas indifférente aux problèmes de la filière car la diversité des publications reflètent la diversité des usages du cocotier. Toutes les parties de la plante sont représentées et quasiment tous les types de produits connus. Cependant, des travaux de recherche sont à mener d'urgence sur les produits à forte valeur ajoutée que sont les produits issus de la bourre (mésocarpe fibreux) : substrats de culture ou géotextiles, l'huile vierge de coco et l'eau de coco. Ce dernier produit, pour lequel les connaissances scientifiques restaient largement à compléter, a été choisi comme objet de recherche de cette thèse.

L'eau de coco, liquide transparent situé à l'intérieur de la noix de coco, est une boisson tropicale rafraîchissante dont le marché international est en pleine expansion. Ce jus de fruit particulier possède des propriétés originales dues à sa composition en sels minéraux, sa faible teneur en sucres solubles et à son arôme. Ainsi, de par la demande croissante des consommateurs, le produit, jusqu'alors consommé localement à même le fruit, a dû être extrait, transformé et stabilisé pour atteindre les marchés internationaux. Les compagnies *Coca Cola* et *PepsiCo* ont récemment investi dans des unités industrielles de production d'eau de coco au Brésil. Nestlé propose un produit « santé » à base d'eau de coco dans sa gamme *Nesfluid*. Toutefois, les unités industrielles de production d'eau de coco se trouvent aujourd'hui confrontées à plusieurs verrous technologiques. La variabilité de la composition de la matière première peut être grande et implique souvent des ajustements de formulation ou de procédé coûteux. Le procédé de stabilisation actuel détruit la majeure partie des arômes et peut provoquer l'apparition de goût non désiré.

L'étude de la littérature montre que la qualité de l'eau de coco, comme celle de nombreux fruits, est fortement influencée par son origine, son mode de culture et son stade de récolte. Par ailleurs, la performance de l'opération de stabilisation d'un produit dépend non seulement de l'optimisation de ses paramètres de contrôle mais également de la connaissance plus ou moins fine des caractéristiques du produit à traiter. Dans notre cas, la transformation de l'eau de coco vise à inhiber ou éradiquer l'action des enzymes endogènes de type polyphénoloxydase (PPO) et peroxydase (POD) tout en stabilisant le produit d'un point de vue sanitaire et en conservant sa composition biochimique et sa flaveur. Si la composition

chimique de l'eau de coco a fait l'objet de nombreuses études, ses niveaux d'activité enzymatique et sa flaveur sont encore peu connus.

L'étude des propriétés physico-chimiques de l'eau de coco est incomplète et sa stabilisation reste un challenge technologique. Répondre à cette problématique va donc nous conduire à travailler au croisement des deux grands domaines que compte la recherche en agroalimentaire : la science des aliments et le génie des procédés. La question à laquelle nous allons tenter de répondre est donc :

Peut-on (i) relier la variabilité de la qualité de l'eau de coco à la variété de cocotiers et au stade de maturité, et (ii) préserver cette qualité à l'aide de technologies douces ?

Aussi ce travail s'attache, dans une première partie, à faire un bilan exhaustif des travaux scientifiques publiés sur la caractérisation de l'eau de coco et sa transformation. Le résultat de cette étude ayant orienté la stratégie de nos recherches vers deux axes distincts et complémentaires, le matériel et les méthodes utilisées pour ces études sont décrits en partie 2 de ce mémoire. La troisième partie de ce document présente les résultats des deux axes de recherche. Le premier axe consiste en l'élaboration d'un indice global permettant de relier les attributs de qualité de la matière première à son potentiel de transformation en boisson, sous l'effet conjugué des facteurs variété et maturité. Ainsi, la première partie de ce mémoire va s'attacher à compléter et approfondir les connaissances actuelles sur la composition de l'eau de coco. Stade de récolte et variété sont maîtrisés afin de cerner leurs effets sur :

- les caractéristiques physiques et chimiques,
- les activités enzymatiques,
- le profil aromatique de l'eau de cinq variétés de cocotiers.

Le second axe détaille les résultats des essais de stérilisation de l'eau de coco par deux approches différentes : une technologie thermique dans un réacteur batch de traitement ohmique et un traitement athermique sur un pilote d'ultrafiltration tangentielle. L'impact de ces deux opérations unitaires sur les propriétés de l'eau de coco est évalué au vu des attributs de qualité précédemment définis. En conclusion de ce travail, des perspectives de recherche sont discutées et proposées.

BIBLIOGRAPHIE

II - Étude bibliographique

II.1. - Le cocotier

Le cocotier est une monocotylédone de l'ordre des palmales et de la famille des palmacées (Figure 2). Il fait partie du genre *Cocos* dont il n'existe qu'une seule espèce *Cocos nucifera* L. Au sens botanique strict, ce n'est pas un arbre. La plante est proche des bambous, des herbes et des roseaux (Ohler, 1999).



Figure 2. Cocotier et noix de coco
(noix de coco d'après R. Bourdeix, Cirad)

L'espèce regroupe un grand nombre d'écotypes ou cultivars qui présentent des morphologies et des colorations variées. Les cocotiers se divisent en trois grandes catégories. On distingue généralement les variétés dites « Cocotiers Grands » (Tall Coconut) strictement allogames des variétés dites « Cocotiers Nains » (Dwarf Coconut) plutôt autogames ; la troisième catégorie regroupe les hybrides de ces deux variétés : Nains x Grands, les plus nombreux ou Grands x Nains, plus rares et Nains x Nains, encore plus rares.

Les cocotiers grands sont caractérisés par une croissance en hauteur importante (20 à 25 m) et une entrée en production peu précoce (7 ans en moyenne). Ils produisent soit un

nombre élevé de noix de taille moyenne, soit un nombre moyen de grosses noix à teneur en coprah (amande de la noix séchée) élevée. Les cocotiers Nains ont une croissance en hauteur plus faible (12 m) et un stipe plus fin. Ils sont autogames mais peuvent aussi être allogames. Ils entrent en production plus tôt (3 à 4 ans) et ont des régimes plus nombreux avec un plus grand nombre de petites noix. Ils sont souvent classés par la couleur de l'épiderme des fruits : Nain Vert, Nain Jaune, Nain Rouge ou Brun (de Taffin, 1993). Les hybrides cumulent les avantages des deux variétés : ils ont une taille moyenne et entrent en production vers 5 ans.

Le fruit est une drupe renfermant une seule graine entourée d'un endocarpe et d'un mésocarpe charnu (Figure 3). La couleur, la forme et la taille du fruit changent avec les variétés. La noix mûre pèse de 1 à 1,5 kg mais il n'est pas rare que des noix immatures pèsent plus de 2 kg. Sa durée de maturation est d'environ douze mois. Le régime porte en moyenne une douzaine de fruits, parfois bien plus selon les variétés. Le fruit est composé d'un épiderme lisse cireux de couleur variable, un mésocarpe fibreux appelé bourre, un endocarpe ligneux marron foncé appelé coque. La graine comporte à maturité un tégument séminal (ou testa), un albumen blanchâtre de 1 à 2 cm d'épaisseur, riche en lipides, qui renferme l'embryon et un liquide opalescent (ou eau de coco) remplissant la cavité centrale.

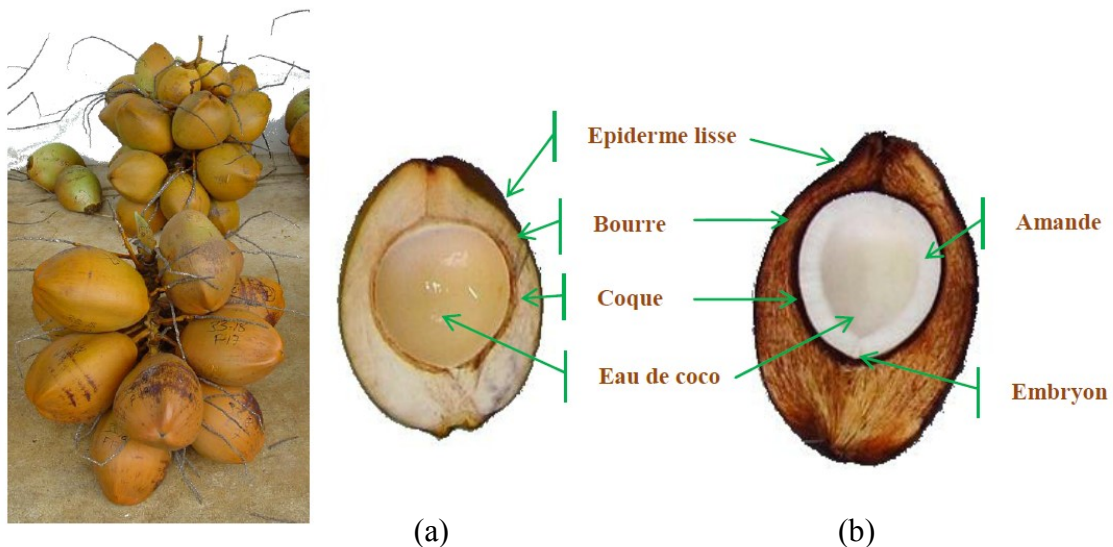


Figure 3. Régime de noix de coco et coupe longitudinale d'un fruit immature (a) et mature (b)

II.2. - L'eau de coco

Cette partie est composée d'un article accepté dans *Fruits*.

Présentation en français

L'eau de coco : ses usages, sa composition et ses propriétés. Partie 1

Alexia PRADES^{1*}, Manuel DORNIER^{1,2}, Nafissatou DIOP³, Jean-Pierre PAIN⁴

¹Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement (CIRAD), UMR 95 QUALISUD, 73 Rue Jean-François Breton, TA B-95/16 F-34398 Montpellier cedex 5, France

²Montpellier SupAgro, UMR 95 QUALISUD, CIRAD, 73 rue J. F. Breton, TA B-95/16, F-34398 Montpellier cedex 5, France, Email : manuel.dornier@cirad.fr

³Institut de Technologie Alimentaire (ITA) - Route des Pères Maristes, BP 2765 Dakar, Sénégal, Email : ndiop@ita.sn

⁴Université Montpellier II, UMR 95 QUALISUD, Place Eugène Bataillon, F-34090 Montpellier, France, Email : jppain@polytech.univ-montp2.fr

*Corresponding author:

Alexia PRADES

Tel: +33 (0)4 67 61 71 65

Fax: +33 (0)4 67 61 44 44

Email : alexia.prades@cirad.fr

Résumé

Le produit. L'eau de coco (*Cocos nucifera* L.) est un ancien breuvage dont la popularité est grandissante sur le marché international des boissons. **Usages.** Au-delà de ses usages traditionnels, ce liquide rafraîchissant extrait de la noix a été décrit comme une « boisson de réhydratation pour sportif ». Des industriels ont ainsi mis en exergue ses propriétés fonctionnelles naturelles. **Composition.** L'eau de coco a une faible teneur en matière sèche (2 à 5% en base humide), constituée de sucres et minéraux. Des critères comme le poids de l'eau par noix, les solides solubles totaux, la quantité de sucres totaux par noix, le rapport sucres réducteurs/sucres totaux (RS/TS) sont de bons indicateurs pour sélectionner les cultivars

adaptés à la production d'eau de coco. Au regard de ces critères, les variétés Naines sont souvent les mieux adaptées à la production de cette boisson. **Propriétés.** La qualité de l'eau de coco est aussi liée à une saveur typique et recherchée ainsi qu'à certaines propriétés spécifiques. Bien que plusieurs auteurs aient attribué à l'eau de coco des propriétés médicinales et aient prouvé son effet positif sur la croissance des cellules, peu de publications identifient clairement les molécules responsables de ces actions. **Discussion.** Pour la première fois dans cette revue, les recherches sur l'eau de coco, des plus anciennes au plus récentes, sont présentées et conduisent à proposer des pistes pour améliorer notre connaissance de ce jus de fruit tropical atypique.

Mots clés : *Cocos nucifera* L.; noix jeunes; maturation; qualité; propriétés physico-chimiques

Article tel qu'accepté

Coconut water: its uses, composition and properties. Part I

Authors

Alexia PRADES^{1*}, Manuel DORNIER^{1,2}, Nafissatou DIOP³, Jean-Pierre PAIN⁴

Affiliations

¹Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement (CIRAD), UMR 95 QUALISUD, 73 Rue Jean-François Breton, TA B-95/16 F-34398 Montpellier cedex 5, France

² Montpellier SupAgro, UMR 95 QUALISUD, CIRAD, 73 rue J. F. Breton, TA B-95/16, F-34398 Montpellier cedex 5, France, Email : manuel.dornier@cirad.fr

³Institut de Technologie Alimentaire (ITA) - Route des Pères Maristes, BP 2765 Dakar, Sénégal, Email : ndiop@ita.sn

⁴Université Montpellier II, UMR 95 QUALISUD, Place Eugène Bataillon, F-34090 Montpellier, France, Email : jppain@polytech.univ-montp2.fr

*Corresponding author:

Alexia PRADES

Tel: +33 (0)4 67 61 71 65

Fax: +33 (0)4 67 61 44 44

Email : alexia.prades@cirad.fr

Abstract

The product. Coconut water (*Cocos nucifera* L.) is an ancient tropical beverage whose popularity on the international market has been continuously increasing in recent years. **Uses.** Besides its various traditional uses, this refreshing liquid extracted from the coconut fruit, has recently been described as a “sport beverage” and has drawn the attention of manufacturers as a natural functional drink. **Composition.** Coconut water has a low matter content (2 to 5% wet basis), mainly comprising sugars and minerals. Quality criteria such as the water/nut ratio, Total Soluble Solids (TSS), total sugar/nut, Reducing Sugars/Total Sugars ratio (RS/TS) are good indicators for estimating the suitability of coconut cultivars for the production of coconut water. Regarding these criteria, Dwarf varieties are the most suitable cultivars to obtain a tasty product. **Properties.** The quality of coconut water can not only be attributed to sugars and minerals because it has also a typical flavour and some original properties. Although many authors cited medicinal uses or growth promoting activities, only a few publications clearly identified the components responsible for these properties. **Discussion.** Results of former and recent investigations are discussed. Finally suggestions are made for further research to increase our knowledge of this original tropical juice.

Keywords: *Cocos nucifera* L.; tendernut; maturity; quality; physicochemical properties

Contents

Introduction	22
Use	23
As a religious symbol.....	23
As a natural beverage.....	23
As medicine.....	23
As a growth medium for microorganisms and plants	24
As a biocatalyst	24
Biochemical composition	24
Influence of the stage of maturity	27
Influence of the variety	29
Influence of cultivation practices	30
Properties	32
Antioxidant Activity	32
Growth promoting factors	32
Medicinal and nutraceutical properties	33
Contribution to the nanoworld	34
Conclusion and future prospects	35

Abbreviations

CW: coconut water
TSS: total soluble solids (g/100ml)
TS: total sugars content (% w/v)
RS: reducing sugars content (% w/v)
PPO: polyphenoloxydase
POD: peroxydase
RI: linear retention index
RT: retention time (min)

Coconut palm cultivars

ADOT: Andaman Ordinary Tall
AROD: Aromatic Dwarf
Arsik. Tall: Arsikere Tall
BDRT: Bodiri Tall
CGD: Chowgat Green Dwarf
COD: Chowgat Orange Dwarf (Ker.= Kerala, Kas.= Kasaragod, Kar.=Karnataka)
CODxWCT: Chowgat Orange Dwarf x West Coast Tall
CRD: Cameroon Red Dwarf
CYD: Sri Lanka Yellow Dwarf
EGD: Equatorial Guinea Green Dwarf
FJLT: Fiji Lontongwan Tall
GB: Gangabondam Tall
GBGD: Gangabondam Green Tall
GUCT: Guam III Tall
Jam. San. T: Jamaica Sanblas Tall
KTOD: Kenthali Orange Dwarf
LCTxCOT: Laccadive Ordinary Tall x Chowgat Orange Dwarf
LCTxGBGD: Laccadive Ordinary Tall x Gangabondam Green Tall
MLT: Malayan Tall
MOD: Malayan Orange Dwarf (1=Karnataka, India; 2=Kasaragod, India)
MYD: Malayan Yellow Dwarf (1=Karnataka, India; 2=Côte d'Ivoire; 3=Kerala, India)
MYDxWAT: Malayan Yellow Dwarf x West African Tall
NGAT: New Guinea Tall
PGD: Sri Lanka Green Dwarf
PHOT: Philippines Ordinary Tall
RTB: King Coconut
SLBD: Sri Lanka Brown Dwarf
SLRD: Sri Lanka Red Dwarf
SPIT: Spikeless Tall
TIT: Tiptur Tall
WAT: West African Tall
WCT: West Coast Tall
WCTxCOD: West Coast Tall x Chowgat Orange Dwarf
WCTxGBGD: West Coast Tall x Gangabondam Green Tall
WCTxMYD: West Coast Tall x Malayan Yellow Dwarf

Introduction

Coconut (*Cocos nucifera* L.) has been described as the most important and extensively grown palm tree worldwide. Every part of the plant is useful and in many cases human life would be impossible in its absence [1]. The leaf and trunk provide building material, and the root is used as medicine [2]. The fruit is the most marketable part, the envelope (mesocarp), called husk, is processed into rope, carpets, geotextiles and growing media. The hard brown shell (endocarp) can be processed into very high quality activated charcoal. The inner part of the nut (endosperm) is divided into two edible parts: a white kernel and a clear liquid: coconut water [3].

For more than a century, the coconut pulp or kernel has been considered as a cash crop because of its high fat content; however, nowadays, coconut is more than just an oil seed. Copra, the dried kernel, was a very important international commodity in the first part of the 20th century. Food and chemical industries processed the lauric oil extracted from copra into margarine or detergent. However in the past 20 years, the volume of world trade in copra has decreased by 75% while the export of “fresh coconuts” has increased by 300%¹. The market for canned coconut milk, coconut cream and coconut juice/water is increasing considerably [4-6]. Coconut is no longer only an international oil commodity but is becoming a valuable fresh fruit.

Coconut water (CW) or coconut juice (not to be confused with coconut milk) is a sweet refreshing drink taken directly from the inner part of coconut fruits [7]. It differs from coconut milk, which is the oily white liquid extracted from the grated fresh kernel. In most cases, coconut water comes from small and scarce coconut trees plantations more related to “gardens”. As a consequence, the coconut water remains a traditional and under-used resource which could be thus considered as an exotic beverage by most of people living far from the coconut production area [8]. An increasing international demand for this product could be a highly positive issue for thousands of African and Asian small farmers.

Coconut water is not only a tropical beverage but also a traditional medicine [2], a microbiological growth medium [9], and a ceremonial gift [10], and can be processed into vinegar [11] or wine [12]. These various uses are possible thanks to the original biochemical composition of the juice. The particular mineral composition and reasonable total sugar content make CW a natural isotonic liquid. The characteristics of coconut water make it an ideal rehydrating and refreshing drink after physical exercise [13].

¹ www.faostat.org (accessed 15 January, 2007)

Current research on coconut water is rare and mainly focuses on i. specific uses (10%), ii. biochemical composition (50%) and iii. preservation techniques (40%). The part I of this review on coconut water presents its uses, from the traditional to the most sophisticated, details its biochemical composition, influenced by the stage of maturity and the variety, and describes its original properties.

Uses

As a religious symbol

As it is a sterile and pure liquid, coconut water was for a long time a religious symbol. In Asia, and especially in India, tender i.e. immature coconuts are offered as ceremonial gifts and serve as purification media at traditional events [10].

As a natural beverage

Centuries ago, Polynesian, Melanesian and Micronesian mariners used coconut fruits as reserves of food and drink [1]. Thanks to this “naturally canned” beverage, they survived on their journeys from one island to the next and colonized the entire Pacific Ocean. Nowadays, coconut water from immature nuts is still consumed as a refreshing drink by thousands of inhabitants of tropical regions. The most developed market for CW is Brazil where sales of the beverage in long life packages increased from 60 million in 2000 to 120 million units in 2006 [14, 15]. The country’s top selling brand, which was produced by Amacoco, was acquired by PepsiCo in 2009, to complement “*one of the fastest growing beverage categories due to its natural hydrating qualities, great taste and nutritional benefits*” according to Massimo d’Amore, chief executive officer of PepsiCo Americas Beverages [16]. Coca-Cola Company has followed PepsiCo and become an investor in ZICO Beverages, a Californian company that sells coconut water [17].

As medicine

Apart from its consumption as a natural drink, one of the most important uses of coconut water is medicinal [18]. In the Indian ayurvedic medicine, it is described as “unctuous, sweet, increasing semen, promoting digestion and clearing the urinary path” [10]. There are numerous references to medicinal uses of coconut in Sri Lanka, a country where

coconut is consumed on a daily basis [2]. Out of the 40 raw or processed parts of the coconut plant cited by Ediriweera [2], five involve coconut water. CW is traditionally prescribed for burning pain during urination, dysuria, gastritis, burning pain of the eyes, indigestion, hiccoughs or even expelling of retained placenta. In case of emergency in remote regions of the world and during World War II, CW was used as a short-term intravenous hydration and resuscitation fluid [19, 20].

As a growth medium for microorganisms and plants

In the early 1960s, coconut water was already known to favour microbial growth and especially “*nata de coco*” bacterium [21]. *Nata de coco* is bacterial cellulose naturally produced at the coconut water/air interface. Native to the Philippines, *Nata de coco* has become popular in many other Asian countries. The “*Nata*” bacterium was later identified as *Acetobacter xylinum* [22]. Traditionally coconut water is also processed into wine [12] or vinegar [11] due to its sugar content and ability to ferment.

Coconut water (previously called “coconut milk”) has been shown to induce division of mature cells [23, 24]. For example, the growth of spinach tissue [25] on a medium supplemented with 10 to 15% (v/v) mature CW increased the weight of spinach callus after 5 weeks and accelerated shoot regeneration (4 to 5 weeks instead of 8 to 12 weeks without).

Many authors reported that coconut water contains a growth factor that stimulates different bacterial strains and *in vitro* culture of plants [9, 26-28]. For this purpose, CW from immature fruits was reported to produce better results than water from mature fruits.

As a biocatalyst

Coconut water appears to be able to support the synthesis of proteins from recombinant DNA vectors [29]. Filtered CW from young Brazilian coconuts displayed high reductase activity at ambient temperature in a series of aliphatic and aromatic aldehydes and ketones, suggesting that CW is probably still under-used in this field of research [30].

Biochemical composition

The coconut fruit takes between 11 to 12 months to reach full maturity. At five months, the kernel begins to form a thin layer of jelly around the inside of the endocarp or shell. The shell encloses the tender water, a clear sweet liquid. At this time the water is under pressure. During the ripening process, the pressure is released and water is partially replaced

by the kernel (Picture 1). Little by little, the kernel grows and replaces water by cells storing lipids [31]. Its composition changes as the nut grows [32]. At full maturity (12 months), coconut water represents between 15% and 30% of the weight of the nut. The amount of coconut water that can be harvested from each nut is about 300 ml but depends to a great extent on the stage of maturity and on the variety of coconut. There are only three types of coconut varieties: Tall (allogamous), Dwarf (autogamous) and hybrid; the last often being a cross between Dwarf (mostly mother) and Tall (father).

PICTURE 1

Coconut water in its envelope is sterile and composed of both organic and inorganic compounds (almost all minerals found in food). Compared with other fruit juices, the dry weight of mature coconut water is very low: 5 to 6% versus 12 to 15% for apple juice. The main components of coconut water are soluble sugars (Table 1) but it also contains proteins, salts and a very small quantity of oil, which contributes to its very low food energy level i.e. 44 cal/l. The vitamin C content varies from 20 to 40 mg/L. This is not high compared with other fruits like orange or acerola but is sufficient to prevent oxidation for a limited period [33]. The vitamin B group is present in CW with 0.64 µg/ml of nicotinic acid and 0.52 µg/ml of panthotenic acid [34].

TABLE 1

Sugars are the main fraction of soluble solids in coconut water [35, 36]. The main sugars in mature CW are sucrose, sorbitol, glucose, fructose [37, 38], followed by minor sugars including galactose, xylose and mannose.

The second constituents in terms of quantity are minerals (Table 2). They account for only 0.4% to 1% of the liquid volume but nevertheless contribute to its isotonic properties. The osmolarity of coconut water is about 300 mOsm/l [39-41]. Authors [36, 41, 42] agreed that potassium is the main mineral element in CW. According to Thampan and Rethinam [34], the major differences in mineral composition between immature and mature CW were due to potassium, chloride, iron and sulphur content, whereas Santoso et al. [43] observed differences due to potassium, copper and sodium.

TABLE 2

Coconut water also contains amino acids [26, 44]. Alanine, arginine, cysteine and serine contents are higher than in cow's milk [45]. One class of proteins, enzymes, has attracted the attention of several authors because they are involved in coconut water discoloration. Samples of green coconut water purchased from a Brazilian research center and

stored at -20°C revealed peroxydase and tyrosinase (polyphenoloxydase) activity of respectively 0.3 and 5 U/ml [46], where U is one unit of enzymatic activity defined as the amount of enzyme extract able to produce an increase in absorbance of 0.001 per minute. Optimum activities of PPO and POD in green coconut water occurred at pH 6.0 and 5.5 and at temperatures of 25 °C and 35 °C, respectively [47]. Various levels of PPO and POD activity are reported in the literature (Table 3). Fast Protein Liquid Chromatography (FPLC) was used to determine the retention time of the enzymes. Respective molecular weights for peroxidase and tyrosinase were 49.2 kDa and 73.8 kDa by gel filtration and 44.63 kDa also for peroxidase by electrophoresis (SDS-PAGE) [46]. These enzymes are assumed to be responsible for the discoloration (pink, yellow or brown) frequently observed in CW.

TABLE 3

The PPO/POD ratio appears to vary considerably, ranging from 0.2 to 16.7. Even in similar coconut varieties, it fluctuates between 0.3 and 16.7, suggesting that enzyme activity probably depends on the history of the coconut fruit: variety, cultivation conditions, stage of maturity at harvest, storage conditions of the fruit and even mode of extraction of the coconut water (involving metal tools). Like for avocado fruits [48], the relative importance of the enzyme activities and their substrates, mainly phenolic compounds, probably changes at different physiological stages of the fruit.

Besides sugars, minerals and proteins, a minor fraction is composed of aromatic compounds. Coconut water has a specific taste and flavour, different from the well-known fragrance of the coconut kernel. This beverage has a typical aroma *per se* which has never been fully characterized. Like organic acids composed of malic, succinic, citric, acetic and tartaric acids [27, 43], which contribute to the taste of coconut water, volatile compounds contribute to the aroma of the fresh liquid. To our knowledge, there are only two publications describing the aromatic compounds of coconut water.

The first article was inadvertently entitled a “Solid-Phase-Microextraction-headspace Aroma Compounds of Coconut Milk and Meat from Cameroon” [49]. In fact, the “coconut milk” cited in the title is not the white milk extracted from the fresh grated kernel but is the limpid coconut water contained by the nut. The SPME-headspace aroma compounds of the mature water and kernel of an unknown variety of coconut from Cameroon were investigated by GC/FID (flame ionization detection) and GC/MS using different achiral and chiral phase GC columns. More than 30 compounds were identified in the coconut headspace samples. The main compounds of the mature coconut water were nonanal (14.2%), nonanol (11.2%),

heptanal (8.2%), ethyl octanoate (6.2%), heptanol (5.3%) and 2-nonanol (5.1%), while the coconut kernel was rich in delta octalactone (12.6%), ethyl octanoate (9.6%), nonanal (8.4%), nonanoic acid (7.2%), decanol (6.8%), decanal (6.2%) and nonanol (6.1%). Alcohols, ketones, thiols, carboxylic acids, phenols, and esters with short carbon chains were also detected in the essential oil of the coconut water extracted by hydrodistillation and solvent extraction [50]. Among these compounds, ester n-propyl ethanoate which was present in both extracts is probably responsible for the flavour of coconut water (Table 4). Unfortunately, the first investigation [49] was carried out using mature coconut, which is far less aromatic than immature CW and the second one [50] did not mention either the exact stage of maturity, or the exact coconut varieties studied.

TABLE 4

Even though the authors identified the same main components of coconut water, considerable variations in content were observed between investigations. These differences may be due to i. the stage of maturity of the fruits [34, 43], ii. the variety [51-53] and iii. the cultivation conditions [42, 54].

Influence of the stage of maturity

The most significant change during the ripening process is the volume of nut water [55, 56]. As the nut matures, there is an increase in the nut water-holding capacity until the kernel begins to form a jelly inside the cavity of the fruit (around the age of 9 months). Then, the water volume decreases as it is gradually used by the fruit to form the kernel.

Compared to other components of coconut water, sugars varied the most throughout the ripening process [40, 56-58]. After a period during which reports in the literature cited erroneous information originating from De Kruijff [59] i.e. that “coconut water contains sucrose which becomes inverted during the maturation of the fruit”, many authors including Gonzalez (1914) cited by Nathanael [60], [61] and recently [62] demonstrated that in fact the exact opposite is true. The latter clearly showed that sucrose appeared in the coconut water aged 6 to 8 months. From that stage, the sucrose content increased until about 40% of total soluble sugars (TSS) at full maturity stage, while glucose and fructose fell down respectively from 40 to 10% of TSS and 55 to 25% of TSS during the same period.

To summarize knowledge of the ripening process, the results of the analysis of total (TS) and reducing sugars (RS) of coconut water in 10 articles published between 1914 and

2008 were computed and analysed. Figures 1 and 2 summarize the data from 13 coconut varieties covering a maturation period of 10 months.

FIGURE 1

In Tall coconut varieties, total sugar contents (TS) of coconut water increased from the 5 months to reach maximum at 7 months (Figure 1). Subsequently, total sugars rapidly decreased until full ripeness at the age of 12 months. At this stage, ripe coconut water contained around 2% (w/v) of total sugars. In Dwarf varieties, changes in total sugar content differed slightly. Like in Tall varieties, changes in totals sugars followed a more or less bell-shaped curve but reached maximum at 6, 7, 8 or 9 months depending on the variety and the production area. Total sugar contents of ripe coconut water of Dwarf varieties were higher: between 2.5 and 3.5% (w/v). There was a shortage of references to hybrid varieties in the literature. Only one of the studied hybrids (Malayan Yellow Dwarf x Rennel Island Tall, MYDxRIT) exhibited the same bell-curve shape. Another hybrid (Malayan Yellow Dwarf x Panama Tall, MYDxPNT also called MAYPAN) exhibited more or less constant total sugar contents during maturation. The third hybrid (Malayan Yellow Dwarf x West African Tall, MYDxWAT or PB121+) exhibited a slight increase in total sugars from 5 to 11 months followed by a decrease between 11 and 13 months. All coconut waters from hybrid varieties exhibited different total sugar contents and a wide range of metabolism.

Finally, the mean total sugar contents of Tall, Dwarf and hybrid coconut water aged from 5 to 12 months exhibited different trends (Figure 1). In Dwarf varieties, CW had the highest total sugar contents and in Tall varieties the lowest. As expected, the total sugar contents of the hybrid (Dwarf x Tall) coconut water was intermediate.

Changes in reducing sugar contents in the CW of Tall, Dwarf and hybrid varieties resembled those in total sugar contents (Figure 2). Ripe coconut water in Tall varieties had very low reducing sugar contents (nearly absent in the West Coast Tall variety). At full maturity, reducing sugars (such as glucose and fructose) were mainly replaced by sucrose. In Dwarf varieties, reducing sugars remained higher than those in Tall varieties especially between 8 and 12 months. The particularity of the hybrids was higher reducing sugar contents at 12 and 13 months than those of Tall and Dwarf. On average, the reducing sugar contents of CW in Dwarf varieties was the highest throughout the ripening process, except for the last 3 months when hybrid varieties were higher. Whatever the stage of maturity, coconut water of Tall varieties had the lowest reducing sugar contents.

FIGURE 2

Influence of the variety

At a given stage of maturity, the biochemical composition of coconut water is highly influenced by the variety. To obtain exhaustive information on the components of coconut water, data from nine articles representing 48 accessions of coconut palms and 42 different varieties were analysed (Table 5). The 6 to 7 month stage was chosen because this was the stage most frequently cited in the literature. This stage of maturity is also claimed by many authors to be the most palatable for drinking coconut water. Rare data were also found on 8 or 9 month old fruits (not described here) in [53, 62, 63]. Among the 42 varieties analysed, 18 were Tall, 17 Dwarf and 7 hybrids. Out of these, four Dwarf varieties: Malayan Yellow Dwarf (MYD), Chowgat Orange Dwarf (COD), Malayan Orange Dwarf (MOD) and Chowgat Green Dwarf (CGD) were investigated several times by different authors [51, 53, 62, 64, 65].

TABLE 5

Most authors who assessed the quality of tender coconut water used similar criteria: volume of water (ml), pH, total soluble solids (g/100ml), total sugars (% w/v), reducing sugars (% w/v), potassium content (mg/100ml) and sodium content (mg/100ml). A few authors also considered the weight of the nuts. Although it is often omitted in publications, weight is essential for the estimation of the water/nut ratio (% v/w). This ratio is a major economic indicator for the evaluation of the cost of transport from the field to the processing or consumption area. The water/nut ratio also helps to compute the amount of waste (green husk and shell) generated during processing or consumption of immature nuts. The water/nut ratio computed from the literature ranged between 14% and 26% (Figure 3). For instance, a 7-month old nut weighing 1.5 kg can include 1.1 to 1.3 kg of husk and shell i.e. waste. To prevent a major environmental problem during CW production, coconut varieties with high water/nut ratios (% v/w) should be selected. However, bulky biowaste can be transformed into floor and wall coverings, geotextiles, or growing media [66]. Some new uses need to be found for these by products and further research is required in this field.

FIGURE 3

Whatever the variety, the total sugar contents of the coconut water in 6 or 7-month old fruits varied from 1 to 2-fold: in the 2.7 to 7.0 g/100 ml range (Table 5). The maximum amount of 7 g/100 ml is close to that of orange juice (8 to 10 g/100 ml) or a soda (from 10 to 12 g/100 ml). At 7 months, total sugars represented more than 75% of the total soluble solids (TSS). Total sugar contents (TS) are correlated with total soluble solids ($R^2=0.622$). Thus, the

measurement of total soluble solids by hand refractometer might be a simple indicator for total sugar contents of 7-month old coconuts.

By multiplying the volume of water (Vol in ml) by the total sugar contents (TS in g/100 ml) or by the total soluble solid contents (TSS in g/100ml) when TS is correlated with TSS,

$$[\text{Vol} \times \text{TS (or TSS)}] / 100 = \text{total sugars/nut}$$

we obtain an estimation of the total sugars per nut (g/nut). Using data from table 5, the total quantity of sugar of one immature coconut was estimated to be in the range of 9 g to 27 g (2 to 6 teaspoons). Depending on the desired use (drink, fermentation medium, concentrated juice, etc.), a more or less sweet variety can be selected. Using varieties with high sugar contents may help start fermentation or facilitate concentration.

Reducing sugar contents (RS) of coconut water in 7-month old nuts ranged from 1.2 to 5.1 g/100 ml (Table 5). Contrary to total sugar contents (TS), the reducing sugar contents of coconut water appeared not to be correlated with either total soluble solids, or total sugar contents. The RS to TS ratio ranged from 52% to 99% and varied among varieties (Figure 4). Most coconut water from Tall varieties had RS/TS ratios below 75%, whereas Dwarf varieties generally had ratios higher than 75%. Fewer data were available concerning hybrids. A classification of coconut cultivars according to the RS/TS ratio of their water should be possible. However, this would require further investigation in a genetic resources collection.

FIGURE 4

Concerning potassium and sodium, the coconut water of an Arsikere Tall could exhibit 1.5-fold higher potassium contents than a Malaysian Yellow Dwarf (MYD) both cultivated in India (Table 5). However, mineral contents are difficult to compare among varieties, since they are strongly dependant on cultivation practices and in particular on the fertilizers or manure applied on coconut palm.

Influence of cultivation practices

Very few publications deal with the impact of the cultivation practices on the biochemical composition of coconut water whereas many agronomical studies deal with the impact of supplementation inputs or cultivation practices on the production of ripe nuts [67, 68]. In 1992, Jeganathan [69] was the only investigator who used coconut water as the main ingredient for the nutritional diagnosis of the plant in comparison with the usual investigation

of the leaves. Coconut water was highly sensitive to fluctuations in potassium and sodium inputs and also sensitive to phosphorus, sulphur and chloride supplementation.

The effects of Nitrogen-Phosphorus-Potassium (NPK) and Nitrogen-Phosphorus (NP) supplementation on coconut water quality were investigated [70, 71]. Unlike potassium, nitrogen supplementation is expected to have a negative effect on the water volume, weight and number of fruits per bunch. It appeared that potassium supplementation had an effect on the potassium content of CW and the amount of soluble solids in 7-month old nuts. The effect of phosphorus supplementation appeared to be similar. Electrical conductivity was negatively correlated with N supplementation. The sensory analysis of coconut water in nuts from fields fertilized with NPK was normal. However, it should be noted that the investigations were only carried out on 3-year old coconut palms [70]. Even though these were Dwarf varieties, and thus premature, these coconut palms were probably not at their maximum production stage but in their growing stage. As a consequence, these results need to be confirmed in varieties after production has stabilized.

Some field irrigation trials were carried out using salty water in Brazil. Coconut palms are being planted in increasing numbers in arid and semi-arid zones of the *Nordeste* despite the inappropriate climate. Marinho et al. [72] investigated field irrigation using water at different salinity rates (0.1; 5.0; 10.0; 15.0 dS/m at 25°C). These authors demonstrated that using the green dwarf variety, nuts can be harvested at 7 months if the salinity of the irrigation water is below 10 dS/m. At higher concentrations, poor yields were obtained. The salinity of the water used for irrigation led to lower fruit mean weight and lower volume of water, but increased the electrical conductivity and the amount of total soluble solids. The coconut water had higher chloride and potassium ion contents [73].

The effects of a conventional cultivation practice versus an organic cultivation system on the quality of coconut water of 7-month old nuts were investigated [54]. Except for the fruits were heavier and longer using conventional cultivation practices, no difference in the quality of the coconut water was detected between the cultivation practices. Analyses by gas chromatography with electron capture and high-performance liquid chromatography with ultra-violet detection did not detect any pesticide residues in a set of 15 coconut water samples [74]. This result emphasized the organic nature of coconut water, which is often cultivated by small-scale farmers in developing countries with no chemical inputs [75].

Properties

Most of the original properties of coconut water are due to minor components such as minerals, volatile aromatic molecules, polyols or small peptides. Only a few of the molecules responsible for medicinal or nutraceutical properties have been scientifically investigated. As a beverage, the sensorial properties of coconut water have rarely been studied, especially colour and flavour.

Antioxidant Activity

The antioxidant ability of coconut water was recently studied by a few authors, reflecting the increasing interest in the nutraceutical properties of natural products. Among 27 tropical fruits purchased in supermarkets and wholesale outlets in Singapore, coconut water had the lowest AEAC (L-ascorbic acid equivalent antioxidant capacity): 11.5 AEAC (mg/100 g) and an ascorbic acid (AA) content of 0.7 mg/100 g [76]. Coconut kernel had higher values than coconut water. The proportion of ascorbic acid in the AEAC of fruits varied greatly among species, from 0.06% in ciku (*Manilkara zapota*) to 70.2% in rambutan and was only 6.1% for coconut water.

According to Mantena *et al.* [77], antioxidant activity was highest in fresh CW samples and decreased significantly on heating, acid or alkali treatments or dialysis. The maturity of coconut drastically decreased the scavenging ability of CW against DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl), ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)) and superoxide radicals. Substantial antioxidant activity was also observed using the DPPH assay for extracts of two green and yellow coconut varieties obtained by hydro-distillation and petroleum ether extraction [50].

Growth promoting factors

In comparison with nutrient broth, using sterilized clarified coconut water as a growth medium reduced the lag phase and enhanced the log phase of eight different microorganisms including *E. coli* and *S. aureus* [9]. Furthermore, after sterilization and appropriate conditioning, a storage period of six months at ambient temperature did not affect the microbial growth capacity of CW.

Shantz and Steward [78] first extracted some of the growth promoting substances, which were later identified by Pollard *et al.* [24] as sorbitol, myo-inositol and scyllo-inositol. In fact, the latter (previously called *cocositol*) was first isolated from coconut leaves by

Müller [79]. Myo-inositol was shown to play a major role in promoting cell division in carrot explants, followed by sorbitol and scyllo-inositol.

Cytokinins are a major group of phytohormones. They have different functions in plants including cell division, seed germination and tissue differentiation. Since 2004, a team of Singaporean researchers has regularly published papers on cytokinins in coconut water. In a series of seven articles Ge *et al.* [80-85] and Ma *et al.* [86] described previously uncharacterized coconut cytokinins. Nine phytohormones were detected and quantified in coconut water: zeatin-O-glucoside, dihydrozeatin-O-glucoside, kinetin (free base and riboside) which has strong anti-ageing effects on human skin [87], ZMP (*Trans*-zeatin riboside 5'-monophosphate), gibberellins (GA₁ and GA₃), IAA (indole-3-acetic acid) and ABA (abscisic acid). A recent review of the chemical and biological properties of coconut water [88] detailed the biological functions of these different cytokinins in both plant and human systems.

The presence of both polyols and phytohormones could explain the growth promoting action of coconut water. Despite their very interesting and important results, the authors unfortunately worked on unidentified cultivars and purchased their coconut fruits in local supermarkets. Samples were immature green coconuts from Malaysia or Thailand. Nothing was known about their growing, harvesting and storage conditions, or their stage of maturity, which could have a major influence on the quality and amount of both polyols and phytohormones.

Medicinal and nutraceutical properties

As coconut water is considered to be a natural medicine in different civilizations, it was screened to identify defense peptides with bactericidal properties [89]. The aim was to find novel approaches to control resistance to commercial antibiotics. Using reversed phase-high performance liquid chromatography (HPLC), three peptides < 3 kDa were purified and identified. These small peptides, namely Cn-AMPs (Coconut-Antimicrobial Peptides), had molecular masses of 858 Da, 1249 Da and 950 Da. Cn-AMPs showed remarkable potential for the development of novel antibiotics from natural sources.

The suitability of coconut water for intravenous and oral hydration has also been reported. As an intravenous fluid, Anzaldo *et al.* [40] infused 500 to 700 ml of coconut water in nine human volunteers and did not detect any significant change either in the electrolytic composition of the blood, or in blood pressure, pulse rate or respiration. But as stated by

Campbell-Falk *et al.* [19] CW does not appear to be an ideal solution for long-term resuscitation but may serve as a temporary alternative in emergencies. It should be noted that the last-mentioned result was based on mature coconut water. However, immature coconut fruits have a better mineral composition and a higher volume [90] and would be more suitable for future research on intravenous use. As an oral hydration fluid, Saat *et al.* [13] compared the efficiency for rehydration after exercise of fresh young coconut water (CW), carbohydrate-electrolyte beverage (CEB) and plain water (PW). Coconut water was significantly sweeter, caused less nausea, fullness and no stomach upset. It was also easier to drink in large quantities than carbohydrate-electrolyte beverage and plain water.

Concerning blood pressure, a mixture of coconut water and Mauby bark syrup (*Colubrina arborescens*) from Trinidad and Tobago could have a beneficial effect on human hypertension [91]. Similarly, the presence of L-arginine (300 mg/l) in CW could have a cardioprotective effect through its production of nitric oxide, which favours vasorelaxation [92]. A similar hypolipidemic effect of coconut water and lovostatin (a lipid lowering drug) was detected in rats fed a fat-cholesterol enriched diet [93].

Concerning nutraceutical effects, coconut water reduced histopathological changes in the brain induced by hormonal imbalance in menopause women [94]. A patented freeze-dried product named Cococin[™] was the main component of a dietary supplement and an anti-aging skin cream [95].

Finally, the anti-cancer properties of cytokinins previously isolated from coconut water by Ge *et al.* [80-85] have recently been the subject of medical research. One of these cytokinins, kinetin, shows an antithrombotic activity [96] and a potential power to reduce certain types of mammalian tumors [97].

Contribution to the nanoworld

Coconut water is now entering the nanoworld. A high-quality NiFe₂O₄ nanosized powder was prepared by a new route using a natural proteic solution of CW and metal ions [98]. The interest of using CW was that it naturally contains a large protein chain which can easily bind to metal ions. The magnetic properties of the resulting nanoparticles were size dependent. This new method of preparation was revealed to be a cheap and efficient way to obtain high-quality nickel ferrite nanosized powders.

Conclusion and future prospects

Coconut water is not a common fruit juice. Its low acidity combined with well-balanced sugar content and isotonic mineral composition makes it a good rehydration and sport drink. Quality criteria such as the water/nut ratio, Total Soluble Solids content (TSS), total sugar/nut, Reducing Sugars/Total Sugars (RS/TS) ratio, and to a lesser extent potassium content, are good indicators for estimating the suitability of coconut cultivars for the production of coconut water as a beverage. From the synthesis of biochemical data, it is clear that Dwarf coconut varieties, with their small nuts, high volume of water, high sugar contents and good organoleptic scores, are the most suitable cultivars to obtain a sweet and tasty product.

However the quality of coconut water can not only be attributed to sugars and minerals because it has also a typical flavour (not yet clearly characterized) and some original properties. Although many authors cited medicinal uses or growth promoting activities, only a few publications clearly identified the components responsible for these properties and none of them studied the potential therapeutic of combined CW hormones and sugars (polyols). In addition, none of these studies took into account of either the origin or the stage of maturity of the coconut fruits.

It is thus important to investigate the biodiversity of coconut palm. With the assistance of COGENT (International Coconut Genetic Resources Network) and Bioversity International, many collection sites around the world (Port Bouët in Côte d'Ivoire, Aracaju in Brazil, Zamboanga in the Philippines, Kasaragod in India, Santo in Vanuatu, etc.) could be screened for quality criteria and functional properties of CW. An international survey could improve our understanding of the effects of climate and cultural conditions on the quality of coconut water. Such an investigation could lead to the discovery of the most suitable varieties for CW beverage or the emergence of some lead compounds for future medicine.

Acknowledgements

The authors wish to acknowledge Dr. Olivier GIBERT and Mrs Daphne Goodfellow for the English revision of the manuscript.

References

- [1] Bourdeix R., Konan J.L., N'Cho Y.P., Coconut: a guide to traditional and improved varieties. Diversiflora, Montpellier, 2005.
- [2] Ediriweera E.R.H.S.S., Medicinal uses of coconut (*Cocos nucifera* L.). Cocoinfo International. 10 (2003) 11-21.
- [3] Pieris W.V.D., L'eau de coco, constituant liquide de l'endosperme de la noix de coco. Note sur la terminologie. Oleagineux. 26 (1971) 383-390.
- [4] Batugal P.A., Ramanatha Rao V., Bong C., Promoting multi-purpose uses and competitiveness of the coconut, in: Batugal P.A., Ramanatha Rao V., Bong C.E. (Eds.). IPGRI, Chumphon, Thaïlande, 1996.
- [5] Chandrasekharan V.G., Remany G., Mathew T.M., Exploring Trade Opportunities for coconut Products - An Experience From New Delhi. Indian Coconut Journal. 35 (2004) 22-24.
- [6] De Leon S.Y., Delores M.I., Coconut, in: Barrett D.M., Somogyi L.P., Ramaswamy H.S. (Eds.), Processing fruits : science and technology. Boca Raton, Florida, Boc, 2005.
- [7] Steiner I., Desser A., Coconut water - composition, properties and processing. Ernährung. 32 (2008) 513-516.
- [8] Jordana J., Traditional foods: challenges facing the European food industry. Food Research International. 33 (2000) 147-152.
- [9] Osazuwa O.E., Ahonkhai I., Coconut water as growth medium for micro-organisms. Nigerian Journal of Palms and Oil Seeds. 10-11 (1989) p.91-95.
- [10] Rethinam P., Kumar T.B.N., Tender coconut - an overview. Indian Coconut Journal. 32 (2001) 2-22.
- [11] Sanchez P.C., Collado L.S., Gerpacio C.L., Lapitan H., Village level technology of processing coconut water vinegar. The Philippine Agriculturist. (1985) 439-448.
- [12] Augustine S.P., Wine produced using tender coconut and product, Inde, 2007.
- [13] Saat M., Singh R., Gamini Sirisinghe R., Nawawi M., Rehydration after Exercise with Fresh Young Coconut Water, Carbohydrate-Electrolyte Beverage and Plain Water.

- Journal of Physiological Anthropology and Applied Human Science. 21 (2002) 93-104.
- [14] Pagel G., Brazil's coconut water coming to a store near you, Brazzil Magazine, 2004.
- [15] De Carvalho J., M., Maia G., A, de Sousa P., H, M., Maia J., G, A, Water of coconut: nutritional and functional properties and processing - Agua-de-coco: propriedades nutricionais, funcionais e processamento. Semina: Ciencias Agrarias Londrina. 27 (2006a) 437-452.
- [16] Heller L., PepsiCo Brazil acquisition to make it coconut water leader, AP-Food Technology. Decision News Media, 2009.
- [17] Glover K., Coke follows pepsi into coconut water market. CBS Interactive Business Network, 2009.
- [18] Nanda Kumar T.B., Tender coconut water : nature's finest drink. Indian Coconut Journal. 21 (1990) p.14-18.
- [19] Campbell-Falck D., Thomas T., Falck T.M., Tutuo N., Clem K., The intravenous use of coconut water. The American Journal of Emergency Medicine. 18 (2000) 108-111.
- [20] Pummer S., Heil P., Maleck W., Petroianu G., Influence of coconut water on hemostasis. The American Journal of Emergency Medicine. 19 (2001) 287-289.
- [21] Alaban C.A., Studies on the optimum conditions for "nata de coco" bacterium or "nata" formation in coconut water. The Philippine Agriculturist. 45 (1962) 490-516.
- [22] De Gallardo J.E., Andres R.M., Magno E.T., A study on the isolation and screening of microorganisms for production of diverse-textured nata. Philippine Journal of Science. 100 (1971) 41-51.
- [23] Van Overbeek J., Conklin M.E., Blakeslee A.F., Factors in coconut milk essential for growth & development of very young Datura embryos. Science. 94 (1941) 350-351.
- [24] Pollard J.K., Shantz E.M., Steward F.C., Hexitols in coconut milk : their role in nurture of dividing cells. Plant physiology. (1961) 492-501.
- [25] Al-Khayri J., Huang F., Morelock T., Busharar T., Spinach tissue culture improved with coconut water. HortScience. 27 (1992) 357-358.
- [26] Sierra Z.N., Velasco J.R., Studies on the growth factor of coconut water - Isolation of the growth promoting activity. The Philippine Journal of Coconut Studies. 1 (1976) 11-18.
- [27] Unagul P., Assantachai C., Phadungruengluij S., Suphantharika M., Tanticharoen M., Verduyn C., Coconut water as a medium additive for the production of

- docosaehaenoic acid (C22:6 n3) by *Schizochytrium mangrovei* Sk-02. *Bioresource Technology*. 98 (2007) 281-287.
- [28] Anith K.N., Mature coconut as a bio-fermentor for multiplication of plant growth promoting rhizobacteria. *Current Science*. 97 (2009) 1647-1653.
- [29] Bustamante J.O., New biotechnological applications of coconuts. *Electronic Journal of Biotechnology*. 7 (2004) 5.
- [30] Da Fonseca A., Monte F., de Oliveira M., de Mattos M., Cordell G., Braz R., Lemos T., Coconut water (*Cocos nucifera* L.)-A new biocatalyst system for organic synthesis. *Journal of molecular catalysis b-enzymatic*. 57 (2009a) 78-82.
- [31] Henry P., Recherches sur la croissance et le développement chez *Elaeis guineensis* Jacq. et chez *Cocos nucifera* L. Comparaisons avec quelques autres palmiers. Université de Paris-Faculté des sciences, Orsay, France, Thèse, 1957, 154 p.
- [32] Jayalekshmy A., Arumughan C., Narayanan C.S., Mathew A.G., Changes in the chemical composition of coconut water during maturation. *Journal of Food Science and Technology*. 23 (1986) p.203-207.
- [33] Dupaigne P., Un jus de fruit peu ordinaire : l'eau de coco. *Fruits*. 26 (1971) 625-627.
- [34] Thampan P.K., Rethinam P., Coconut Products for Health and Medicine. *Indian Coconut Journal*. 35 (2004) 6-15.
- [35] Lapitan O.B., Mabesa R.C., Chemical and sensory characteristics of Laguna and Golden coconuts (*Cocos nucifera* L.). *Philippine Agriculturist*. 66 (1983) 144-150.
- [36] Pue A.G., Rivu W., Sundarrao C., Singh K., Preliminary studies on changes in coconut water during maturation of the fruit. *Science in New Guinea*. 18 (1992) 81-84.
- [37] Del Rosario J.E., Bergonia H.A., Flavier M.E., Samonte J.L., Mendoza E.M.T., Chromatographic analysis of carbohydrates in coconut water. *Transactions of the National Academy of Science and Technology*. 6 (1984) 127-151.
- [38] Ogundiya M.O., Glucose content of nut water in four varieties of coconut palm (*Cocos nucifera*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 56 (1991) 399-402.
- [39] Chavalittamrong B., Pidatcha P., Thavisri U., Electrolytes, sugar, calories, osmolarity and pH of beverages and coconut water. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine Public Health*. 13 (1982) 427-431.
- [40] Anzaldo F.E., Kintinar Q.L., Recto P.M., Velasco R.U., De La Cruz F., Jacalne A., Coconut water as intravenous fluid. *Philippine Journal of Coconut Studies*. 10 (1985) 31-43.

- [41] Richter E.M., Jesus D.P.d., Muñoz R.A.A., Lago C.L.d., Angnes L., Determination of Anions, Cations, and Sugars in Coconut Water by Capillary Electrophoresis. *Journal of Brazilian Chemical Society*. 16 (2005) 1134-1139.
- [42] Uphade B.K., Shelke S.S., Thorat D.G., Studies on some physico-chemical characteristics of coconut water near sugar and chemical factory, Kopergaon (M. S.). *International Journal of Chemical Sciences*. 6 (2008) 2052-2054.
- [43] Santoso U., Kubo K., Ota T., Tadokoro T., Maekawa A., Nutrient composition of kopyor coconuts (*Cocos nucifera* L.). *Food Chemistry*. 57 (1996) 299-304.
- [44] Shivashankar S., Biochemical changes during fruit maturation in coconut - [Changements biochimiques au cours de la maturation du fruit chez le cocotier]. *Journal of Plantation Crops*. 19 (1991) 102-119.
- [45] Woodroof J.G., Coconut storage and processing, and minor uses of products of the coconut tree, in: AVI (Ed.), *Coconuts : production, processing, products*, Westport, 1970.
- [46] Duarte A.C.P., Coelho M.A.Z., Leite S.G.F., Identification of peroxidase and tyrosinase in green coconut water. *Ciencia y Tecnologia Alimentaria*. 3 (2002) 266-270.
- [47] Campos C.F., Souza P.E.A., Coelho J.V., Gloria M.B.A., Chemical composition, enzyme activity and effect of enzyme inactivation on flavor quality of green coconut water. *Philippine Journal of Coconut Studies*. 20 (1996) 487-500.
- [48] Golan A., Kahn V., Sadovski A.Y., Relationship between Polyphenols and Browning in Avocado Mesocarp. Comparison between the Fuerte and Lerman Cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 25 (1977) 1253-1260.
- [49] Jirovetz L., Buchbauer G., Ngassoum M.B., Solid-phase-microextraction-headspace aroma compounds of coconut (*Cocos nucifera* L.) milk and meat from Cameroon. *Ernährung/nutrition*. 27 (2003) 300-303.
- [50] Da Fonseca A.M., Bizerra A.M.C., Souza J.S.N.d., Monte F.J.Q., Oliveira M.d.C.F.d., Mattos M.C.d., Cordell G.A., Braz-Filho R., Lemos T.L.G., Constituents and antioxidant activity of two varieties of coconut water (*Cocos nucifera* L.). *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 19 (2009b) 193-198.
- [51] Dhamodaran S., Ratnambal M.J., Chempakam B., Pillai R.V., Viraktamath B.C., Evaluation of tendernut water in coconut cultivars, in: Nair M.K., et al. (Eds.),

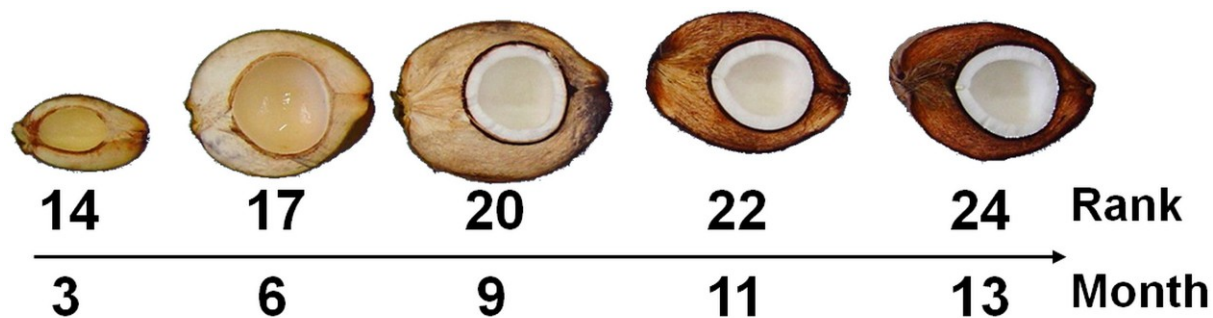
- Advances in Coconut Research and Development. ISOCRAD II Oxford and IBH Publishing Co. PVT Ltd, New Delhi, India, 1993.
- [52] Wang P., Liu L., Dong Z., Feng M., Li Y., Tang L., Characteristics and mineral elements of tender coconut water in different coconut (*Cocos nucifera* L.) cultivars. *Journal of Fruit Science*. 25 (2008) 601-603.
- [53] Apshara S., E, Kumaran P., M, Arunachalam V., Jayabose C., Evaluation of coconut hybrids for suitability as tender nut. *Indian Coconut Journal*. 38 (2007) 20-23.
- [54] Da Silva D.L.V., Alves R.E., Figueiredo R.W.d., Maciel V.T., Farias J.M.d., Aquino A.R.L.d., Características físicas, físico-químicas e sensoriais da água de frutos de coqueiro anão verde oriundo de produção convencional e orgânica. *Ciência e Agrotecnologia*. 33 (2009) 1079-1084.
- [55] Chikkasubbanna V., Jayaprasad K.V., Subbaiah T., Poonacha N.M., Effect of maturity on the chemical composition of tender coconut (*Cocos nucifera* L. var. Arsikere Tall) water. *Indian Coconut Journal*. 20 (1990) p.10-13.
- [56] Jackson J.C., Gordon A., Wizzard G., McCook K., Rolle R., Changes in the chemical composition of coconut (*Cocos nucifera*) water during maturation of the fruit. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 84 (2004) 1049-1052.
- [57] Child R., Nathaniel W.R.M., Changes in the sugar composition of coconut water during maturation and germination. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 1 (1950) 326-329.
- [58] Kwiatkowski A., Clemente E., Scarcelli A., Batista V., Quality of coconut water 'in natura' belonging to Green Dwarf fruit variety in different stages of development, in plantation on the northwest area of Parana, Brazil. *International journal of food agriculture and environment*. 6 (2008) 102-105.
- [59] De Kruijff E., Composition of coconut water and presence of diastase in coconuts. *Bulletin du département de l'agriculture aux Indes néerlandaises*. 4 (1906) 1-8.
- [60] Nathanael W.R.N., The sugars of coconut water. *Ceylon Coconut Quarterly*. 3 (1952) 193-199.
- [61] Lahille A., *Bulletin Economique de l'Indochine*. 23 (1920) 1-25.
- [62] Assa R.R., Konan J.L., Agbo N., Prades A., Nemlin J., Caractéristiques physico-chimiques de l'eau des fruits de quatre cultivars de cocotier (*Cocos nucifera* L.) en Côte d'Ivoire. *Agronomie Africaine*. 19 (2007) 41-51.

- [63] Ranasinghe C.S., Madurapperuma W.S., Nainanayake N.P.A.D., Mendis H.C., Fernando W.P.K.K., Tender coconuts for export market: evaluation of cultivars and improved protocol for extended shelf-life. *Indian Coconut Journal*. 51 (2009) 18-25.
- [64] Nadanasabapathy S., Kumar R., Physico-chemical constituents of tender coconut (*Cocos nucifera*) water. *Indian Journal of Agricultural Sciences*. 69 (1999) 750-751.
- [65] Samsudeen K., Niral V., Jerard B.A., Kumaran P.M., Native Tendernut Cultivars of Coconut (*Cocos nucifera* L.) from India. *Indian Coconut Journal*. 36 (2006) 10-13.
- [66] Wazir S.K.S., Technologies on environment-friendly young tender coconuts, in: APCC (Ed.), *Proceedings of Cocotech Meeting*. APCC, Manila, The Philippines, 1997.
- [67] Magat S.S., Coconut productivity factors: environment, nutrition and crop variety. *Coconuts Today*. (1988) 45-53.
- [68] Ouvrier M., Exportation par la récolte du cocotier PB-121 en fonction de la fumure potassique et magnésienne. *Oléagineux*. 39 (1984) 263-268.
- [69] Jeganathan M., Nut water analysis as a diagnostic tool in coconut nutrition studies. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 23 (1992) 2667-2686.
- [70] Da Silva R.A., Cavalcante L.F., Holanda J.S.d., Pereira W.E., Moura M.F.d., Ferreira neto M., Fruits quality of green dwarf coconut fertirrigation with nitrogen and potassium. *Revista Brasileira de Fruticultura*. 28 (2006b) 310-313.
- [71] Teixeira L.A.J., Bataglia O.C., Buzetti S., Furlani junior E., Dos Santos Isepon J., NPK fertilization on Dwarf Green coconut (*Cocos nucifera* L.) - yield and fruit quality. *Revista Brasileira de Fruticultura*. 27 (2005) 120-123.
- [72] Marinho F., J, L, Gheyi H., R, Fernandes P., D, Holanda J., S, de, Ferreira N., M, Production of 'Anao Verde' coconut irrigated with saline water - Cultivo de coco 'Anao Verde' irrigado com aguas salinas. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*. 41 (2006) 1277-1284.
- [73] Ferreira neto M., Gheyi H.R., Holanda J.S.d., al. e., Quality of green coconut fruits in relation to salinity of irrigation water. *Rev. bras. eng. agríc. ambient*. 6 (2002) 69-75.
- [74] Brito N.M., Navickiene S., Polese L., Jardim E.F.G., Abakerli R.B., Ribeiro M.L., Determination of pesticide residues in coconut water by liquid-liquid extraction and gas chromatography with electron-capture plus thermionic specific detection and solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection. *Journal of Chromatography A*. 957 (2002) 201-209.

- [75] Assa R.R., Konan J.L., Nemlin J., Prades A., Agbo N.z., Sie R.S., Diagnostic de la cocoteraie paysanne du littoral ivoirien. *Sciences & Nature*. 3 (2006) 113-120.
- [76] Leong L.P., Shui G., An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets. *Food Chemistry*. 76 (2002) 69-75.
- [77] Mantena S.K., Jagadish, Badduri S.R., Siripurapu K.B., Unnikrishnan M.K., *In vitro* evaluation of antioxidant properties of *Cocos nucifera* Linn. water. *Nahrung*. 47 (2003) 126-131.
- [78] Shantz E.M., Steward F.C., Coconut milk factor: the growth promoting substances in coconut milk. *Journal of the American Chemical Society*. 74 (1952) 6133-6135.
- [79] Müller H., CLXVI.—Cocositol (cocosite), a constituent of the leaves of *Cocos nucifera* and *cocos plumosa*. *Journal of the Chemical Society, Transactions*. 91 (1907) 1767-1780.
- [80] Ge L., Peh C.Y.C., Yong J.W.H., Tan S.N., Hua L., Ong E.S., Analyses of gibberellins by capillary electrophoresis-mass spectrometry combined with solid-phase extraction. *Journal of Chromatography A*. 1159 (2007) 242-249.
- [81] Ge L., Wan Hong Yong J., Tan S.N., Yang X.H., Ong E.S., Analysis of some cytokinins in coconut (*Cocos nucifera* L.) water by micellar electrokinetic capillary chromatography after solid-phase extraction. *Journal of Chromatography A*. 1048 (2004) 119-126.
- [82] Ge L., Yong J.W.H., Goh N.K., Chia L.S., Tan S.N., Ong E.S., Identification of kinetin and kinetin riboside in coconut (*Cocos nucifera* L.) water using a combined approach of liquid chromatography-tandem mass spectrometry, high performance liquid chromatography and capillary electrophoresis. *Journal of Chromatography B*. 829 (2005) 26-34.
- [83] Ge L., Yong J.W.H., Tan S.N., Hua L., Ong E., Analyses of gibberellins in coconut (*Cocos nucifera* L.) water by partial filling-micellar electrokinetic chromatography-mass spectrometry with reversal of electroosmotic flow. *Electrophoresis*. 29 (2008) 2126-2134.
- [84] Ge L., Yong J.W.H., Tan S.N., Ong E.S., Determination of cytokinins in coconut (*Cocos nucifera* L.) water using capillary zone electrophoresis-tandem mass spectrometry. *Electrophoresis*. 27 (2006b) 2171-2181.
- [85] Ge L., Yong J.W.H., Tan S.N., Yang X.H., Ong E.S., Analysis of cytokinin nucleotides in coconut (*Cocos nucifera* L.) water using capillary zone electrophoresis-

- tandem mass spectrometry after solid-phase extraction. *Journal of Chromatography A*. 1133 (2006a) 322-331.
- [86] Ma Z., Ge L., Lee A., Yong J., Tan S., Ong E., Simultaneous analysis of different classes of phytohormones in coconut (*Cocos nucifera* L.) water using high-performance liquid chromatography and liquid chromatography-tandem mass spectrometry after solid-phase extraction. *Analytica chimica acta*. 610 (2008) 274-281.
- [87] Rattan S.I.S., Clark B.F.C., Kinetin delays the onset of aging characteristics in human fibroblasts. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 201 (1994) 665-672.
- [88] Yong J.W.H., Liya G., Fei N.Y., Ngim T.S., The chemical composition and biological properties of coconut (*Cocos nucifera* L.) water. *Molecules*. 14 (2009) 5144-5164.
- [89] Mandal S., Dey S., Mandal M., Sarkar S., Maria-Neto S., Franco O., Identification and structural insights of three novel antimicrobial peptides isolated from green coconut water. *Peptides*. 30 (2009) 633-637.
- [90] Goldsmith H.S., Coco-nut water for intravenous therapy. *The British Journal of Surgery*. 49 (1961) 421-422.
- [91] Alleyne T., Roache S., Thomas C., Shirley A., The control of hypertension by use of coconut water and mauby: two tropical food drinks. *West Indian medical journal*. 54 (2005) 3-8.
- [92] Anurag P., Sandhya V., G, Rajamohan T., Cardioprotective effect of tender coconut water. *Indian Coconut Journal*. 37 (2007) 22-25.
- [93] Sandhya V.G., Rajamohan T., Comparative evaluation of the hypolipidemic effects of coconut water and lovastatin in rats fed fat-cholesterol enriched diet. *Food and chemical toxicology*. 46 (2008) 3586-3592.
- [94] Radenahmad N., Saleh F., Sawangjaroen K., Rundorn W., Withyachumnarnkul B., Connor J.R., Young coconut juice significantly reduces histopathological changes in the brain that is induced by hormonal imbalance: a possible implication to postmenopausal women. *Histology and Histopathology*. 24 (2009) 667-674.
- [95] Prakash L., Natural ingredients nurture skin health from the inside and out. *NutraCos*. 7 (2008) 6-9.
- [96] Hsiao G., Shen M.-Y., Lin K.-H., Chou C.-Y., Tzu N.-H., Lin C.-H., Chou D.-S., Chen T.-F., Sheu J.-R., Inhibitory activity of kinetin on free radical formation of

- activated platelets in vitro and on thrombus formation in vivo. *European Journal of Pharmacology*. 465 (2003) 281-287.
- [97] Vermeulen K., Strnad M., Krytof V., Havlík L., Van der Aa A., Lenjou M., Nijs G., Rodrigus I., Stockman B., van Onckelen H., Van Bockstaele D.R., Berneman Z.N., Antiproliferative effect of plant cytokinin analogues with an inhibitory activity on cyclin-dependent kinases. *Leukemia*. 16 (2002) 299-305.
- [98] De Paiva J.A.C., Graca M.P.F., Monteiro J., Macedo M.A., Valente M.A., Spectroscopy studies of NiFe₂O₄ nanosized powders obtained using coconut water. *Journal of Alloys and Compounds*. 485 (2009) 637-641.
- [99] Costa L.M.C., Maia G.A., Costa J.M.C.d., Figueiredo R.W.d., Rodrigues M.d.C.P., Sousa P.H.M.d., Pinheiro A.M., Qualidade e vida de prateleira da água de coco obtida pelo processo de enchimento a quente. *Revista Brasileira de Armazenamento*. 31 (2006) 95-102.
- [100] Enonuya O.M.D., High performance liquid chromatographic analysis of nutwater syrup fractions from two varieties of Nigerian coconuts (*Cocos nucifera* L.). *Nigerian Journal of Palms and Oil Seeds*. 9 (1988) 48-58.
- [101] Sison B.C.J., Disposal of coconut processing waste. *The Philippine journal of coconut studies*. 11 (1977) 39-41.
- [102] Diop N., Caractérisation physico-chimique de l'eau de la noix de coco verte (*Cocos nucifera* L.) et essais de stabilisation par techniques membranaires. ENSIA-SIARC, Montpellier, France, Master thesis, 2005, 132 p.
- [103] Abreu L.F., Faria J. de A.F., Temperature and ascorbic acid effects in physico-chemical stability and enzymatic activity of coconut water (*Cocos nucifera* L.) aseptic filled - Influencia da temperatura e do ácido ascorbico sobre a estabilidade físico-química e atividade enzimática da água de coco (*Cocos nucifera* L.) acondicionada assepticamente. *Ciencia e Tecnologia de Alimentos*. 27 (2007) 226-232.
- [104] Murasaki-Aliberti N.D., da Silva R.M.S., Gut J.A.W., Tadini C.C., Thermal inactivation of polyphenoloxidase and peroxidase in green coconut (*Cocos nucifera*) water. *International Journal of Food Science and Technology*. 44 (2009) 2662-2668.



Picture 1: Growing coconut fruit

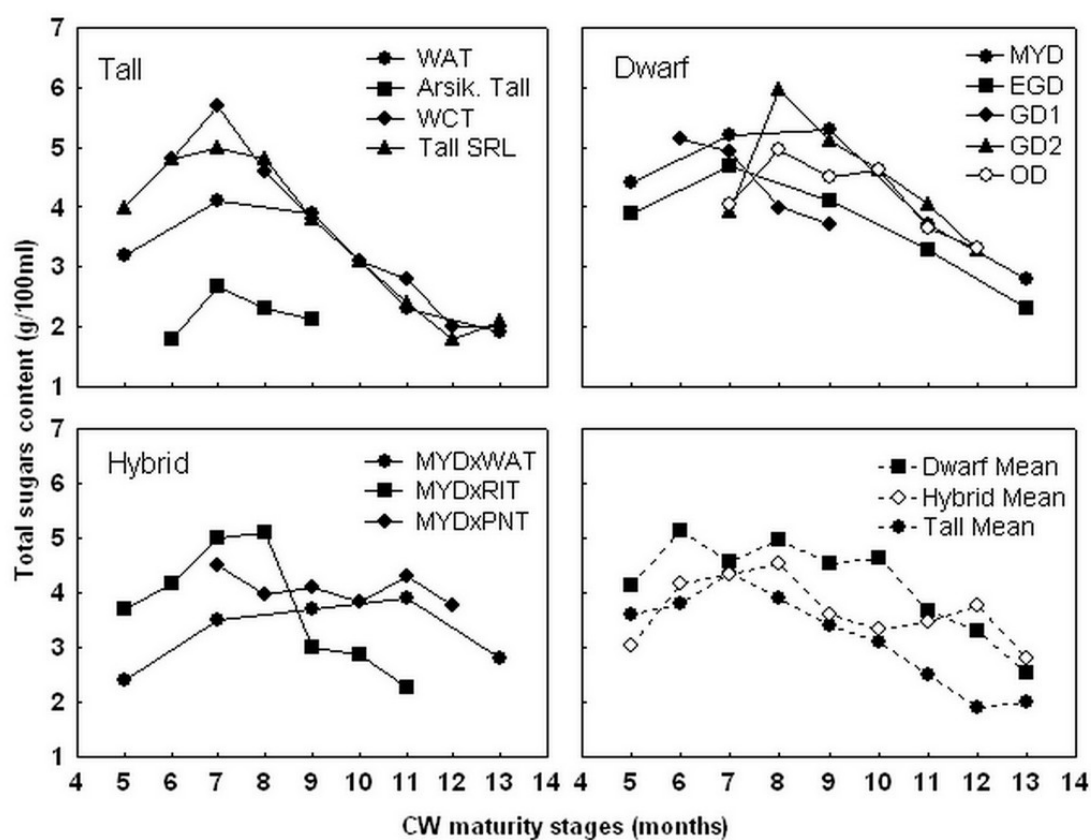


Figure 1: Total sugar contents of coconut water (% w/v) of Tall, Dwarf, hybrid varieties and means of Tall, Dwarf and hybrid varieties at different stages of maturity (5 to 13 months old).

Sources:[40, 32, 36, 55, 56, 58, 60, 62, 99]

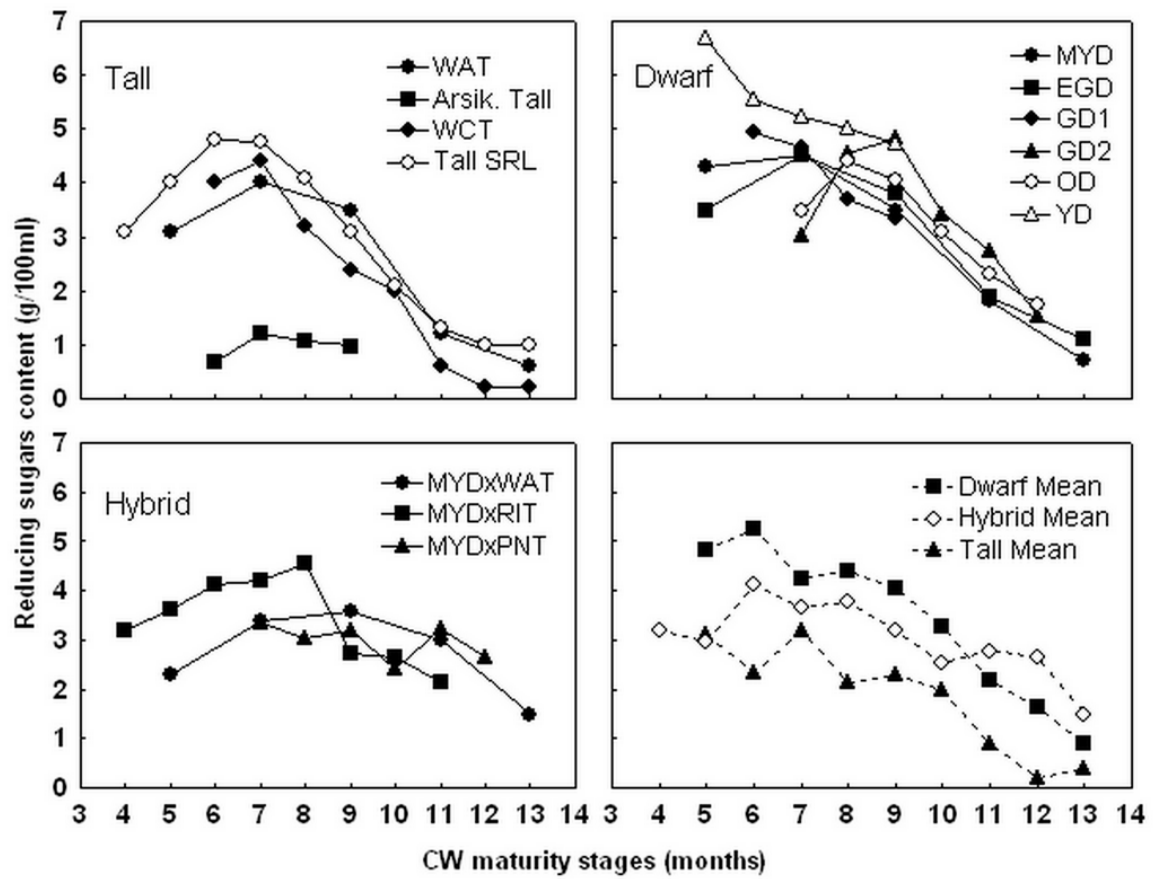


Figure 2: Reducing sugar contents of coconut water (% w/v) of Tall, Dwarf, hybrid varieties and means of Tall, Dwarf and hybrid varieties, at different stages of maturity (from 4 to 13 months). *Sources:*[40, 32, 36, 55, 56, 58, 60, 62, 99]

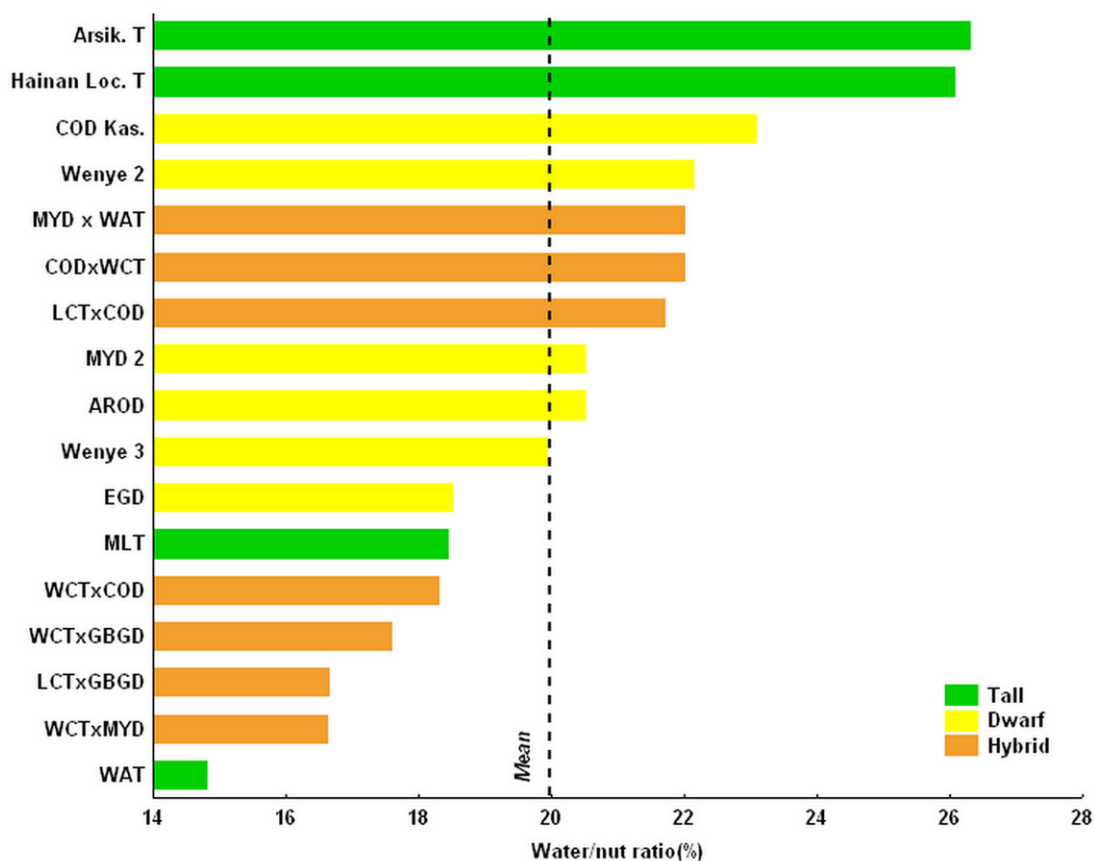


Figure 3: Water/nut ratio (% v/w) of 17 Tall (T), Dwarf (D) and hybrid (TxD) coconut cultivars. COD: Chowgat Orange Dwarf, MYDxWAT: Malayan Yellow Dwarf x West African Tall, CODxWCT: Chowgat Orange Dwarf x West Coast Tall, LCTxCOT: Laccadive Ordinary Tall x Chowgat Orange Dwarf, MYD: Malayan Yellow Dwarf, AROD: Aromatic Dwarf, EGD: Equatorial Guinea Green Dwarf, MLT: Malayan Tall, WCTxCOD: West Coast Tall x Chowgat Orange Dwarf, WCTxGBGD: West Coast Tall x Gangabondam Green Tall, LCTxGBGD: Laccadive Ordinary Tall x Gangabondam Green Tall, WCTxMYD: West Coast Tall x Malayan Yellow Dwarf, WAT: West African Tall. *Sources:*[43, 53, 62, 55, 52]

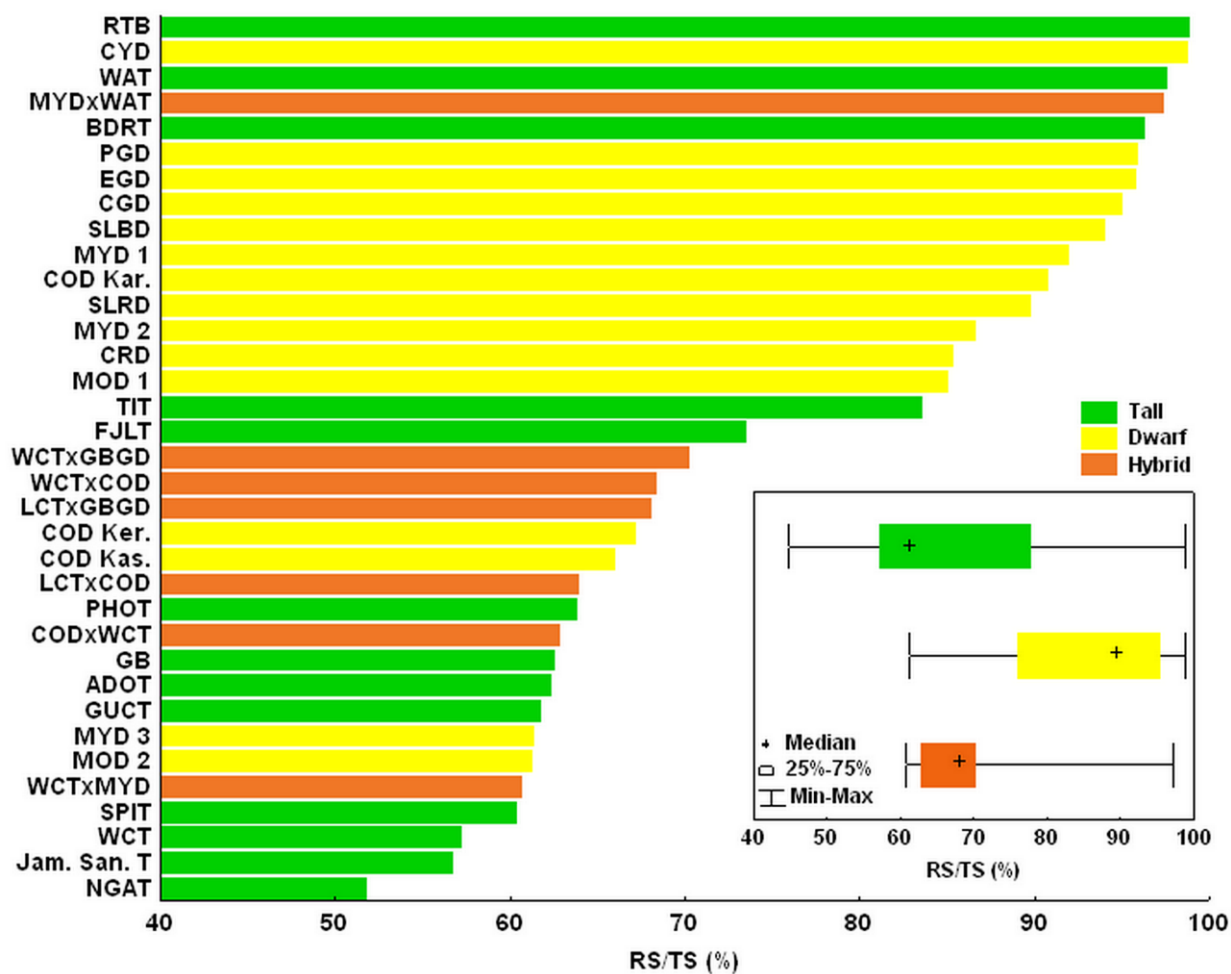


Figure 4: Ratio of reducing sugars to total sugars (RS/TS %) of the immature coconut water of 34 Tall, Dwarf and hybrid varieties. *Sources:*[43, 51-53,55, 62, 64]

Table 1: Composition of the mature coconut water of 13 Tall, Dwarf and hybrid varieties

		Laguna Tall	Malayan Tall	West African Tall (Nigeria)	West African Tall (Côte d'Ivoire)	Golden Dwarf	West African Dwarf	Malayan Yellow Dwarf	Equatorial Green Dwarf	Malayan Yellow Dwarf x West African Tall (PB121 ⁺)	Malayan Dwarf x Rennell Tall	Unknown variety	Unknown variety	Unknown variety	Mean	SD
	Units	[35]	[43]	[100]	[62]	[35]	[100]	[62]	[62]	[62]	[36]	[27]	[101]	[34]		
Water vol.	ml/nut		385	307	154		198	229	189	238					243	79
pH		5.6	5.2	6.1	5.5	5.5	5.2	5.8	5.4	5.2	5.6		5.6	5.1	5.5	0.3
Total solids	g/100ml		5.6	3.3	4.6		5.3	3.9	4.4	4.9		4.0	4.7		4.5	0.7
Total sugars	g/100ml	3.2	4.4		1.9	3.2		2.8	2.3	2.8	2.3	1.8	2.6		2.7	0.8
Sucrose	g/100ml	2.4	5.1	4.9		2.3	5.4				0.1	0.7			3.0	2.2
Reducing sugars	g/100ml	0.6	2.9		0.6	0.8		0.7	1.1	1.5	2.1	1.1			1.3	0.4
Glucose	g/100ml		1.5								1.7	0.5			1.2	0.6
Fructose	g/100ml		1.4								0.4	0.6			0.8	0.5
Proteins	g/100ml		0.51	0.03			0.02						0.55	0.14	0.25	0.26
Fats	g/100ml		0.14									0.66	0.74		0.51	0.33
Ash	g/100ml		0.46											0.40	0.43	0.04

Sources: Lapitan et al. [35] ; Santoso et al. [43] ; Enonuya [100] ; Assa et al. [62] ; Pue et al. [36] ; Unagul et al. [27] ; Sison [101] ; Thampan and Rethinam [34].

Table 2: Mineral composition of mature coconut water

K	Cl	S	Ca	Na	Mg	P	Mn	Al	Zn	Fe	Cu	References
mg/100ml										µg/100ml		
356			46.0	31.0	14.0				0.03			[36]
255		4	31.3	15.9	9.3	12.6	0.08	0.06	0.02	16	29.3	[43]
247	108	80	40.0	48.0	15.0	6.3				79	26.0	[34]
164	131		18.2	4.1	7.8	21.0						[41]*
273			47.7	45.4	11.7	9.2				112	28.7	[42]*
164-356	108-131	4-80	18.2-47.7	4.1-48.0	9.3-15.0	6.3-21.0	0.08	0.06	0.02-0.03	16-112	26.0-29.3	Min-Max
259	119.5	42	36.6	28.9	11.6	12.3	0.08	0.06	0.025	69	28.0	Mean

*For these authors, the analysed coconut water was at an unknown maturity stage

Table 3: PPO and POD activities in fresh immature coconut water

Coconut variety, origin & maturity stage (<i>when available</i>)	PPO (U/ml)	POD (U/ml)	Ratio PPO/POD	References
Green coconut, Brazil	32.1	114.3	0.3	[47]
Green coconut, Brazil	16.5	3.6	4.5	[139]
Green coconut, Brazil	5.0	0.3	16.7	[46]
Green Dwarf, Costa Rica, 8 months	75.0	9.9	7.6	[102]
Green Dwarf, Brazil	2.3	12.2	0.2	[103]
Green coconut, Brazil	0.1 - 34.8	0.1 - 6.2	1.1 - 5.6	[104]

Table 4: Aromatic compounds identified by SPME-headspace of mature coconut water from a Cameroon cultivar [49] and by hydrodistillation and solvent extraction of green and yellow coconut water from Brazil [50]

Jirovetz <i>et al.</i> [49]			Da Fonseca <i>et al.</i> [50]		hydrodistillation		solvent extraction	
Compounds	RI	% Peak Area	Compounds	RI	Green CW	Yellow CW	Green CW	Yellow CW
					% Peak Area		% Peak Area	
3-Methyl butanal	654	1.06	<i>n</i> -Propyl ethanoate	750	15.3		53.5	16.7
Butanol	657	2.17	1-Methylpropyl methanoate	752			4.1	
2-Pentanone	687	0.12	3-Hydroxybutan-2-one	753			4.5	6.2
2-Pentanol	705	0.52	Methyl 2-hydroxypropanoate	754		0.9		
3-Methyl butanol	737	0.69	4-Methylpentan-2-one	759	12.0		29.0	
Pentanol	766	1.03	Ethyl 2-hydroxypropanoate	764			0.7	
2-Hexanone	789	tr	Butane-1,3-diol	765			1.7	67.7
Hexanal	799	1.27	Butane-1,2-diol	766			3.1	3.0
Hexanol	865	3.02	Butane-2,3-diol	767			3.2	3.6
Heptanal	899	8.16	Ethyl carbonate	768	2.1			
Heptanol	934	5.31	Hexan-2-ol	774		1.0		
2-Heptanol	972	2.16	<i>n</i> -Butyl ethanoate	776	2.0			
Octanal	1002	2.55	Furfural	781	14.5	0.8		
Nonanal	1005	14.21	4-Hydroxy-4-methylpentan-2-one	784	30.5			
Limonene	1031	1.1	2-Hydroxy-2-methylpentane	803	3.2			
Octanol	1073	4.31	<i>p</i> -Menth-8-en-1-ol acetate	873	1.4			
2-Nonanol	1086	5.14	Phenyl acetaldehyde	877		0.9		

Jirovetz <i>et al.</i> [49]			Da Fonseca <i>et al.</i> [50]		hydrodistillation		solvent extraction	
Compounds	RI	% Peak Area	Compounds	RI	Green CW	Yellow CW	Green CW	Yellow CW
					% Peak Area		% Peak Area	
delta-Hexalactone	1088	1.48	4-Methoxybenzyl acetate	1069		5.3		
			7,9-Di- <i>ter</i> -butyl-oxaspiro[4.5]deca-6,9-					
Nonanol	1175	11.23	diene-2,8-dione	1235		4.5		
Octanoic acid	1179	3.53	Methyl 6,9,12-octadecatrienoate	1241		4.2		
Ethyl octanoate	1195	6.16	<i>n</i> -Hexadecanoic acid (palmitic acid)	1244		18.4		
Decanal	1204	4.17	3,6-Dioxane-1,8-diol	1262		5.0		
delta-Octalactone	1231	3.17	3-Mercaptodecane	1274		46.2		
Decanol	1267	3.15	9-Octadecenoic acid (oleic acid)	1276		5.3		
Nonanoic acid	1273	3.13	9-Octadecen-1-ol	1300		6.1		
Undecanal	1306	1.15	Diethyl adipate	1304	11.2			
Undecanol	1365	3.25						
Decanoic acid	1371	1.1						
delta-Decalactone	1422	2.2						
delta-Dodecalactone	1530	1.14						

Table 5: Composition of the immature coconut water of 42 coconut palm cultivars

Cultivars (Age 6-7 months)	International code	Nut Weight (g)	Water vol. (ml)	pH	TSS (g/100ml)	Total Sugars (g/100ml)	Reducing Sugars (g/100ml)	Amino acids (mg/100ml)	Ash (mg/100ml)	K (mg/100 ml)	Na (mg/100 ml)	Titrateable Acidity (meq/100ml)	Refs
Arsikere Tall, India	n.a.	1380	363	4.90	4.5	2.69	1.2	0.82		308.0		1.9	[55]
New Guinea Tall	NGAT		358			5.80	3.0	1.40		225.8	2.10		
Philippines Ordinary Tall	PHOT		451			5.80	3.7	1.30		227.3	2.40		
Fiji Longtongwan Tall	FJLT		390			4.90	3.6	1.40		264.1	2.90		
Spikeless Tall (Spicata Tall)	SPIT		275			5.30	3.2	1.70		261.7	3.80		
West Coast Tall	WCT		240			5.60	3.2	1.30		279.7	3.70		
Andaman Ordinary Tall	ADOT		274			5.30	3.3	2.10		227.2	2.70		
Jamaica Sanblas Tall	n.a.		263			6.00	3.4	1.70		270.3	2.80		[51]
Malayan Yellow Dwarf, Kasaragod, India	MYD		238			6.20	3.8	1.70		199.8	3.60		
Malayan Orange Dwarf, Kasaragod, India	MOD		303			6.70	4.1	1.80		214.2	3.50		
Gangabondam Tall	GB		267			5.60	3.5	1.70		212.5	2.80		
Chowgat Orange Dwarf, Kasaragod, India	COD		351			7.00	4.7	1.80		200.3	2.00		
Guam III Tall	GUCT		278			6.00	3.7	2.00		243.4	3.40		
Malayan Tall, Indonesia	MLT	3000	553	4.70	5.8	4.76	3.7		863.6	202.9	1.74	1.3	[43]

Cultivars (Age 6-7 months)	International code	Nut Weight (g)	Water vol. (ml)	pH	TSS (g/100ml)	Total Sugars (g/100ml)	Reducing Sugars (g/100ml)	Amino acids (mg/100ml)	Ash (mg/100ml)	K (mg/100 ml)	Na (mg/100 ml)	Titrateable Acidity (meq/100ml)	Refs
Chowgat Green Dwarf	CGD		320	5.17	5.2	5.12	4.9		349.9			0.5	
Chowgat Orange Dwarf, Karnataka, India	COD		390	4.94	4.9	4.86	4.4		289.1			0.7	
Malayan Yellow Dwarf, Karnataka, India	MYD		480	5.02	4.7	4.70	4.3		282.7			0.7	[64]
Malayan Orange Dwarf, Karnataka, India	MOD		240	4.83	4.6	4.54	3.9		281.6			0.9	
Tiptur Tall	TIT		350	4.89	4.5	4.48	3.7		312.8			0.8	
Chitta Gangapani Dwarf	n.a.		450			6.00							
Uddha Gangapani Semitall	n.a.		370			6.80							
Sevvelanir Tall	n.a.		300			6.00							
Chowgat Orange Dwarf, Kerala, India	COD		350			7.00							[65]
Chowgat Green Dwarf	CGD		190			4.80							
Gangabondam Green Dwarf	GBGD		270			5.60							
Kenthali Orange Dwarf	KTOD		206			6.30							
Chowgat Orange Dwarf x West Coast Tall	CODxWCT	1550	341	5.97	6.6	6.08	3.8	1.87		201.8	2.33		
Laccadive Ordinary Tall x Chowgat Orange dwarf	LCTxCOD	1570	341	5.10	6.4	6.07	3.9	1.91		210.2	2.34		[53]
Laccadive Ordinary Tall x Gangabondam Green Dwarf	LCTxGBGD	1597	266	4.78	6.2	4.91	3.3	1.61		231.1	3.16		

Cultivars (Age 6-7 months)	International code	Nut Weight (g)	Water vol. (ml)	pH	TSS (g/100ml)	Total Sugars (g/100ml)	Reducing Sugars (g/100ml)	Amino acids (mg/100ml)	Ash (mg/100ml)	K (mg/100 ml)	Na (mg/100 ml)	Titrateable Acidity (meq/100ml)	Refs
West Coast Tall x Chowgat Orange Dwarf	WCTxCOD	1630	298	4.92	6.2	5.08	3.5	1.63		253.6	3.03		
West Coast Tall x Gangabondam Green Dwarf	WCTxGBGD	1653	291	4.95	5.9	5.23	3.7	1.67		260.2	2.75		[53]
West Coast Tall x Malayan Yellow Dwarf	WCTxMYD	1671	278	4.93	6.1	5.44	3.3	1.82		271.2	2.58		
Chowgat Orange Dwarf, Kasaragod, India	COD	1555	359	5.77	7.0	6.38	4.2	2.21		209.2	2.33		
West African Tall	WAT	2160	320	5.10	5.4	4.10	4.0						
Malayan Yellow Dwarf, Côte d'Ivoire	MYD	1384	284	5.20	6.4	5.20	4.5						[62]
Equatorial Guinea Green Dwarf	EGD	1581	292	5.00	6.0	4.70	4.5						
Malayan Yellow Dwarf x West African Tall	MYDxWAT	2159	475	5.20	4.7	3.70	3.6						
Wenye n°2	n.a.	1610	356	5.50	6.3					36.9	3.47		
Wenye n°3	n.a.	1480	295	5.51	6.0					35.8	3.13		[52]
Local Tall, Hainan	n.a.	2080	542	5.58	5.6					35.9	3.48		
Aromatic Dwarf	AROD	1360	279	5.58	7.7					33.8	3.01		
King Coconut	RTB		528			4.40	4.4			199.0	2.00		
Bodiri Tall	BDRT		235			5.30	5.1			220.0	1.00		[63]
Cameroon Red Dwarf, Sri Lanka	CRD		334			3.40	2.9			150.0	1.10		

[illegible]

Synthèse de l'article

L'eau de coco n'est pas un jus de fruit ordinaire puisqu'elle ne provient pas de la pulpe d'un fruit broyée et pressée. Sa faible acidité (8 meq.L⁻¹) est contrebalancée par une concentration en sucres totaux de l'ordre de 58 g.L⁻¹. Sa composition en sels minéraux autorise son utilisation en tant que liquide de réhydratation. Après un effort physique, le pouvoir de réhydratation de l'eau de coco est supérieur à celui de l'eau plate. Les critères de qualité tels que le rapport poids de l'eau sur poids de la noix entière, l'extrait sec soluble, la quantité de sucres totaux par noix, le rapport entre sucres réducteurs et sucres totaux et, dans une moindre mesure, la concentration en potassium sont de bons indicateurs pour estimer le potentiel « boisson » des variétés de cocotier.

Après avoir synthétisé et analysé les données de la littérature sur la base des critères de qualité proposés plus hauts, il apparaît que les variétés naines sont clairement meilleures que les cocotiers grands pour une consommation sous forme de boisson. Certaines de ces variétés produisent en effet un grand nombre de petites noix contenant un volume d'eau important. Leur eau est plus riche en sucres solubles et est toujours la plus appréciée par les consommateurs dans le cadre de tests sensoriels hédoniques. Cependant, cette préférence n'est pas totalement expliquée par les concentrations en sucres ou sels minéraux. L'arôme de l'eau de coco, bien que subtil et léger, entre aussi en ligne de compte dans le choix des consommateurs. Malgré ce constat, le profil aromatique de l'eau de coco immature n'a pas encore été décrit en détail dans la littérature scientifique.

Par ailleurs, de nombreux auteurs attribuent des vertus médicinales ou étudient les effets des « facteurs de croissance » de l'eau de coco sans chercher à les identifier alors que, ailleurs dans le monde, d'autres équipes de recherche ont identifiés et quantifiés des cytokinines (hormones de croissance) et des polyols dans l'eau de coco. Mais ni la variété, ni le stade de maturité n'ont été pris en compte dans ces études. A l'avenir, il serait judicieux de combiner les deux approches (estimation des effets de molécules clairement isolées et identifiées) afin de mieux comprendre par exemple les effets « anti-âge » des cytokinines de l'eau de coco sur la peau ou leurs actions sur la division cellulaire. Ainsi, s'il s'avère que certaines de ces molécules ont un réel intérêt nutritionnel ou fonctionnel, il deviendra utile d'explorer la diversité des variétés de cocotier et d'examiner l'impact de l'effet du stade de maturité des noix de coco sur l'activité biologique de ces composés.

II.3. - Les procédés de stabilisation

II.3.1. - État de l'art des procédés de stabilisation de l'eau de coco

Cette partie a fait l'objet d'une publication acceptée dans Fruits.

Présentation en français

L'eau de coco : sa conservation et sa transformation. Partie 2

Alexia PRADES^{1*}, Manuel DORNIER^{1,2}, Nafissatou DIOP³, Jean-Pierre PAIN⁴

¹Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement (CIRAD), UMR 95 QUALISUD, 73 Rue Jean-François Breton, TA B-95/16 F-34398 Montpellier cedex 5, France

²Montpellier SupAgro, UMR 95 QUALISUD, CIRAD, 73 rue J. F. Breton, TA B-95/16, F-34398 Montpellier cedex 5, France, Email : manuel.dornier@cirad.fr

³Institut de Technologie Alimentaire (ITA) - Route des Pères Maristes, BP 2765 Dakar, Sénégal, Email : ndiop@ita.sn

⁴Université Montpellier II, UMR 95 QUALISUD, Place Eugène Bataillon, F-34090 Montpellier, France, Email : jppain@polytech.univ-montp2.fr

*Corresponding author:

Alexia PRADES

Tel: +33 (0)4 67 61 71 65

Fax: +33 (0)4 67 61 44 44

Email : alexia.prades@cirad.fr

Résumé

Le produit. L'eau de coco (*Cocos nucifera* L.) est un breuvage tropical dont les propriétés fonctionnelles naturelles intéressent aujourd'hui les industriels. **Conservation.** Ce liquide rafraîchissant provient des noix de coco immatures dont la récolte et le stockage restent délicats. Toutefois, certaines études menées essentiellement en Asie, tendent à prouver que des traitements post-récoltes pourraient prolonger la durée de vie des noix immatures. **Transformation.** L'eau de coco extraite de la noix est évidemment plus simple à manipuler et transporter. Mais, sa

composition la rend particulièrement sensible aux dégradations biologiques et chimiques. Des traitements thermiques combinés à l'usage d'additifs sont aujourd'hui utilisés dans l'industrie mais d'autres technologies comme la micro ou l'ultrafiltration ne sont toujours pas disponibles pour ce produit. Quel que soit le procédé de stabilisation utilisé, le goût et la saveur originels de l'eau de coco restent très difficiles à préserver. **Discussion.** Pour la première fois dans cette revue, les recherches sur l'eau de coco, des plus anciennes au plus récentes, sont présentées et conduisent à proposer des pistes pour améliorer notre connaissance de ce jus de fruit tropical atypique.

Mots clés : *Cocos nucifera* L.; noix jeunes; maturation; qualité; conservation; stabilisation

Article tel qu'accepté

Coconut water: its preservation and processing. Part II

Alexia PRADES^{1*}, Manuel DORNIER^{1,2}, Nafissatou DIOP³, Jean-Pierre PAIN⁴

Affiliations

¹Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement (CIRAD), UMR 95 QUALISUD, 73 Rue Jean-François Breton, TA B-95/16 F-34398 Montpellier cedex 5, France

² Montpellier SupAgro, UMR 95 QUALISUD, CIRAD, 73 rue J. F. Breton, TA B-95/16, F-34398 Montpellier cedex 5, France, Email : manuel.dornier@cirad.fr

³Institut de Technologie Alimentaire (ITA) - Route des Pères Maristes, BP 2765 Dakar, Sénégal, Email : ndiop@ita.sn

⁴Université Montpellier II, UMR 95 QUALISUD, Place Eugène Bataillon, F-34090 Montpellier, France, Email : jppain@polytech.univ-montp2.fr

*Corresponding author:

Alexia PRADES

Tel: +33 (0)4 67 61 71 65

Fax: +33 (0)4 67 61 44 44

Email : alexia.prades@cirad.fr

Abstract

The product. Coconut water (*Cocos nucifera* L.) is an ancient tropical beverage whose original properties have drawn the attention of manufacturers as a natural functional drink. **Preservation.** This refreshing liquid comes mainly from immature coconuts which are difficult to collect, store and thus to commercialize. Nevertheless, some studies, mostly from Asian countries, tend to prove that the shelf-life of immature coconut fruits could be prolonged thanks to postharvest treatments. **Processing.** Coconut water itself, extracted from the nut is obviously easier to handle but is also very sensitive to biological and chemical injuries. Thermal treatment combined with chemical additives are already used by the industry but other technologies such as micro and ultrafiltration are not yet available at industrial scale. Whatever the process, taste, aroma and colour (linked to enzymatic activities) are still difficult to control. **Discussion.** Results of former and recent investigations are discussed. Finally suggestions are made for further research to increase our knowledge of this original tropical juice.

Keywords: *Cocos nucifera* L.; tendernut; maturity; quality; conservation; stabilization

Contents

Introduction	63
Preservation and Sale of Young Tender Coconuts	64
Coconut water processing	65
Mature coconut water processing	65
An environmental problem	66
A valuable food	66
Young coconut water processing	67
Thermal treatments	67
Non-thermal treatments	70
Shelf-life and quality of processed young coconut water	71
Conclusion and future prospects	73

Abbreviations

CW: coconut water
 PPO: polyphenoloxylase
 POD: peroxydase
 MF: microfiltration
 UF: ultrafiltration
 VRF: volumic reduction factor

Table 1

ρ : density (kg/m^3)
 T: temperature ($^{\circ}\text{C}$)
 α : thermal diffusivity (m^2/s)
 μ : dynamic viscosity (Pa.s)
 c_p : specific heat ($\text{J/kg.}^{\circ}\text{C}$)
 c_w : specific heat of water ($\text{J/kg.}^{\circ}\text{C}$)
 m_w : mass of water inside the calorimeter (kg)
 C_{cal} : calorific capacity of calorimeter ($\text{J/}^{\circ}\text{C}$)
 T_{eq} : equilibrium temperature ($^{\circ}\text{C}$)
 T_0 : calorimeter + initial temperature of water ($^{\circ}\text{C}$)
 m_s : sample mass (kg)
 T_s : initial temperature of the sample ($^{\circ}\text{C}$)
 m_h : hot water mass (kg)
 T_h : hot water temperature ($^{\circ}\text{C}$)
 m_c : cold water mass (kg)
 T_c : calorimeter + cold water temperature ($^{\circ}\text{C}$)
 K: thermal conductivity ($\text{W/m.}^{\circ}\text{C}$)

Table 2

A: enzymatic activity (U/ml/min)
 A_0 : initial enzymatic activity (U/ml/min)
 a, k_1, k_2 : multicomponent first-order model coefficient
 α : fraction of the initial activity of the isoenzyme 1 (%)
 t: time (s)
 T_{ref} : reference temperature ($^{\circ}\text{C}$)
 D: decimal reduction time (min)
 z: temperature difference required for tenfold change in D ($^{\circ}\text{C}$)

Introduction

Coconut (*Cocos nucifera* L.) is one of the most important and extensively grown palm tree worldwide. The inner part of the nut (endosperm) is divided into two edible parts: a white kernel and a clear liquid: coconut water [1]. Both parts can be processed into many different ways and lead to various products such as copra, virgin coconut oil, coconut cream, coconut milk, desiccated coconut, coconut water, nata de coco etc [2]. The market for canned coconut milk, coconut cream and coconut juice/water is increasing considerably [3-5]. Coconut is no longer only an international oil commodity but is becoming a valuable fresh fruit.

Coconut water (CW) also called coconut juice (not to be confused with coconut milk) is a sweet refreshing drink taken directly from the inner part of coconut fruits [6]. It differs from coconut milk, which is the oily white liquid extracted from the grated fresh kernel. The coconut water consumed as a beverage usually comes from immature coconut fruits [7]. Due to its unique characteristics the coconut water is considered as a natural functional drink [8]. Its sugars content and mineral composition make it an ideal rehydrating and refreshing drink after physical exercise [9]. Previously considered as simple tropical refreshment or occasionally as medicine, coconut water is progressively becoming a natural healthy drink. As a beverage being extracted in few tropical and subtropical areas and only processed in some Brazilian or Asian industrial manufactures, the coconut water remains a traditional and under-used resource. In most cases, coconut water comes from small and scarce coconut trees plantations more related to “gardens”, except in Brazil where the growing market demand lead growers to create, few years ago, large commercial coconut plantations. An increasing international demand for this product could be a highly positive issue for thousands of African and Asian small farmers. But to compete on the international beverage market, coconut water still has to be carefully processed, packed, transported and stored.

After suitable varieties have been identified, coconut palms have to be harvested at the right stage of maturity and in optimal conditions [10]. The immature fruits are often consumed immediately after harvest or sold, either on a local market (75% of the production) or dispatched, with or without pre-treatment, to the international market. Most whole young tender coconuts from the Asian and Pacific Coconut Community pass through Hong-Kong or Singapore markets before being transported by plane to Taiwan, the US or the EU. However, a tender coconut can be heavy (0.8 to 2 kg), leading to considerable air freight costs.

Apart from the market for whole young tender coconuts, whose transport can be expensive thus limiting exports, coconut water is also removed from the nut and processed. Although

coconut water is sterile as long as it remains in the inner cavity of the nut [11], it is very difficult to preserve. As soon as the nut is opened, its biochemical composition and physical appearance change. Thermal and non-thermal treatments, sometimes combined with additives, have been tried with varying degrees of success. In Asian countries and in Brazil, canned, bottled or tetra-packed coconut water is available. But those who have tasted these manufactured juices are aware that they differ from fresh coconut juice. Prolonging the CW shelf-life without modifying its flavour and nutritious properties remains a technical challenge. Fermentation processes are also encountered but lead to fully different final products which do not resemble natural coconut water. Figure 1 is a flow diagram of the different manufactured products made of young coconut water.

FIGURE 1

Current research on the post-harvest sector of coconut water is rare. And two different fields have to be taken into account: preservation of the whole nut (the Young Tender Coconut, YTC market) and processing of coconut water. Nevertheless, we found in the literature these two approaches that we describe in detail in this review.

Preservation and Sale of Young Tender Coconuts

Young tender coconuts are still the best way to preserve coconut water (inside its natural container) but the nuts cannot be stored for more than six days at ambient temperature [12]. In Sri Lanka, the Coconut Research Institute [13] suggested some technical guidelines for the shipping of King Coconuts for export. Following their advice on preparation, young tender coconuts can remain fresh and safe for 3 weeks at 13 to 15 °C and 70% RH (reefer containers). Similarly, a project funded by the Indian Coconut Development Board has provided a completely supply chain for young tender coconuts from the field to the kiosks and retailers. The minimum processing consisted in dipping partially husked nuts in a solution of 0.5% citric acid and 0.5% of potassium metabisulfite for three minutes. The final product, wrapped with polypropylene cling film, can be stored up to 24 days at 5 to 7 °C [14].

Like for many tropical fruits, reducing the temperature below 12°C results in chilling injury: the coconut skin rapidly browns. For the whole nut without any treatment, preservation for 28 days at either 12 °C or 17 °C gave the best results reported in the literature [15-17]. For the whole nut with treatment such as sanitization, i.e. immersion in a specific solution for few minutes [18], the best result was obtained after 21 days at 12 °C [19]. Surprisingly sanitization did not improve the shelf life of the nut. For the whole nut with film wrapping, results were equivalent or even better: 28 days at 12 °C with PE film [16] and 30 days at 12 °C with PVC film [19]. The

longest shelf life for whole young tender coconuts was obtained with paraffin wrapping stored for 49 days at 12 °C [17].

The most common method to promote the sale of young tender coconuts on local markets, in supermarkets, or in restaurants is to partially remove the tender mesocarp (husk) up to the outer shell. The partially husked young tender coconuts have become so famous on Asian markets, especially in Thailand, that a prototype machine has been designed to trim and open young coconut fruits [20, 21].

However, the exposed trimmed husk quickly turns brown, reducing the commercial value of the fruit even though the coconut water remains of good quality inside. Without any packing or sanitization, these partially husked nuts can only be stored for seven days at 17 °C. To overcome the problem, the freshly-cut nut can be immersed in a solution of anti-browning agent such as sodium metabisulfite at a concentration of about 2000 ppm for 5 to 10 minutes [22]. With anti-browning treatment and a film wrapping, the shelf-life is estimated at 24 days at 5 °C [23]. Finally, immersion in carnauba wax emulsion maintains the freshness of partially husked young tender coconuts up to 30 days at 12 °C [24].

In conclusion, the best method for prolonging shelf life was obtained using wax coatings: paraffin for whole young tender coconuts up to 49 days at 12 °C, and carnauba for partially husked fruits up to 30 days at 12 °C. Other waxes should be tested to preserve young tender coconuts and to optimise conditions for the sale of this natural product. Additional work is also needed to optimise coatings and packaging. A better understanding of the coconut fruit ripening process and senescence could also help design suitable storage conditions such as modified atmosphere packaging (MAP).

Coconut water processing

Mature coconut water processing

As early as 1977, Sison [25] raised the question of the disposal of the mature coconut water. Until now mature coconut water was considered as a waste, especially in coconut processing plants (desiccated coconut factories, coconut milk factories, etc.). Pramith [26] estimated the total volume of coconut water discarded by the Sri Lankan coconut mills at 261 MT per year. The liquid causes environmental pollution and is also a waste of a valuable food [27].

An environmental problem

A desiccated coconut factory which splits about 300 000 coconuts a day throws out approximately 5.3 m³ of pure coconut water plus 44 m³ of wash water, giving a total of 50 m³ of effluent per day. Pure coconut water has a BOD (Biological Oxygen Demand) of 29000 mg/l and wash water about 3000 mg/l so that the global liquid waste from the factory has about 5800 mg/l of BOD, which has to be reduced to the accepted level of 50 mg/l [25]. Several standard techniques can be used in Sri Lankan conditions including letting the coconut water settle and skimming off the surface oily layer, which can be processed into soap. Anaerobic treatment in an Upflow Sludge Anaerobic Blanket (UASB) and aerobic treatment in ponds have also been suggested [27]. The quality of the effluent to discharge into inland surface waters includes a pH of 6.5 to 8 and maximum allowed amount of 300 mg/l, 30 mg/l and 10 mg/l for COD, BOD and oil, respectively [28].

A valuable food

First attempts to make use of the liquid waste as food failed due to technical difficulties involved in removing the residual oil from the liquid. A membrane was tested to separate the residual oil. The mature coconut water was previously heated to 95 °C to precipitate the protein. Then pasteurisation gave a relatively high flux of up to 42 l/h.m² at 60 °C and up to 245 kPa with a 0.45 µm hydrophilic PVDF membranes [26]. Fresh mature coconut water was also concentrated by plate-and-frame reverse osmosis using composite membranes (DDS type HR98 with a cut-off of less than 500 Da) at 2, 3 and 4 MPa inlet pressures [29].

The most economical and practical ways to enhance the value of coconut water were still making vinegar [30], using it as a growth medium for yeasts [25], for xanthan gum production [31], for the culture for various lactic acid bacteria [32] or for “Nata de coco” production [33]. Nata de coco is pure cellulose, free of lignin and hemicellulose, produced by *Acetobacter xylinum* [34-36]. Besides its use as a food, the gel-like substance is also considered to impart extraordinary mechanical strength when processed into film or sheets [37, 38]. Nata de coco was also tested as a natural coating for minimally processed fruits [39]. Coatings containing 1% and 2% of carboxymethyl-cellulose from Nata de coco, referred to as carboxymethyl-nata, were applied on bell peppers to evaluate the effect of the polysaccharide coating on the post-harvest life of the fruits. Results suggested that this coating significantly reduced the ripening rate. Jagannath *et al.* [40] studied the production of Nata de coco by *Acetobacter Xylinum* using tender coconut water as a medium instead of the usual mature coconut water.

Young coconut water processing

Even if some publications addressed the processing of young coconut water before the mid-1990s [41-43], the first paper presenting detailed scientific results of thermal treatment of young coconut water was published in 1996. Since then, 10 articles have been published on pasteurisation and two on sterilization. Two additional publications by the University of Sao Paulo, Brazil, described microwave treatment of CW. Besides classical thermal techniques, cooling and freezing are the two processes currently used in the industry. Surprisingly, they are only cited or described in three articles and one manual. As far as we know, membrane filtration techniques, mentioned in seven papers, have not yet been used industrially for young coconut water.

No information was found in literature on young coconut water aseptic extraction whereas it is the first crucial operation in coconut water processing. It is probably due to the fact that this opening step is the key issue to get a high quality raw material and each company wants to preserve its know-how. Other explanation could be that it is still a high challenging technical problem because of the rapid discoloration and fermentation occurring just after the coconut cracking.

Thermal treatments

Pasteurization, sterilization and combined treatments

The first paper on the preservation of tender coconut water was Indian [43]. Additives such as nisin, minimum heating and packing in polymeric pouches and metal cans were cited as being used to achieve commercial sterility. A more detailed process to develop shelf-stable ready-to-serve green coconut water was described by Chowdhury *et al.* [44]. The authors filtered the freshly extracted coconut water, pasteurised it at 85 °C for 10 min and cooled it. The CW then was filled into metal cans or glass bottles. Cans and bottles were sterilised at 121 °C for 30 min and at 100 °C for 15 min, respectively.

An experimental hot-fill process was also compared with other commercial coconut water subjected to cooling, freezing, aseptic filling in cartons and industrialized hot-fill processing [45]. The experimental process consisted in filtration, addition of citric acid to reduce the pH to 4.5, addition of fructose to standardise the soluble solids content at 7 g/100ml and sodium metabisulfite (45 mg/100 ml), addition of sodium benzoate (124 mg/100 ml) and ascorbic acid (0.13 mg/100 ml), pasteurization at 90 °C for 2 min and filling in 200 ml glass bottles. Samples were stored at ambient temperature (28 °C). The experimental hot-fill samples were acceptable

even though they did not resemble other commercial samples in terms of physicochemical attributes.

In Taiwan, sterilisation is commonly used as thermal treatment to stabilise coconut water and frequently causes non-enzymatic browning of the liquid [46]. In order to remove the brown colour, active carbon, cation exchange resin, sulphur compounds such as sulphite, acetyl-cysteine, glutathione and cysteine were successfully tested.

Thermal treatment and microbiological effects

The main objective of the thermal treatments is to stop or eradicate the microbiological load such as *Escherichia coli* [47] for consumer safety. Thermal treatments were applied on “buko”, a mix of coconut water/distilled water (80/20) and respectively 60 and 20g of macerated solid endosperm and refined sugar per litre of beverage. Glass test tubes were immersed in a hot water bath at 60, 70 and 80°C for different lengths of time. According to the different temperatures and time treatments, a *D* value was determined, i.e. the time (in minutes) required for a 1 log₁₀ reduction of the survival of the reference strain. The calculated *D* values for *Escherichia coli* on “buko” ranged from 0.26 ± 0.01 min at 80 °C to 0.56 ± 0.08 min at 60 °C.

Thermal treatment and thermophysical properties

Before the design or adaptation of specific food processing equipment, an important step is often left out: assessment of the effect of temperature on the thermophysical properties of the raw material. Food composition and temperature are important factors which affect the thermal behaviour of a tropical fluid such as coconut water. The density, dynamic viscosity, thermal diffusivity, thermal conductivity and specific heat of the water of green *Bahia* coconuts (presumed to be the *Brazilian Green Tall* or *Dwarf* variety) bought from a local market in Brazil [48] were measured using a range of temperatures from 5 °C to 80 °C. Temperature significantly affected the above properties, which displayed linear trends, except for dynamic viscosity, which displayed an exponential curve. Different equations and models were proposed to fit the experimental data (Table 1).

TABLE 1

Thermal treatment and enzymatic browning control

The major problem encountered in coconut water stabilisation is apparently not microbiological or chemical stability since these objectives have already been partially achieved [44, 45], but the fact that enzymes need to be inactivated to stabilise the colour and taste of the final product. As is true for many fruit juices, polyphenol oxydase (PPO) and peroxydase (POD) enzymes are present in young coconut water.

The consequence of PPO or POD activities in coconut water is discoloration. Yellow, brown or pink discoloration of the CW can occur a few minutes or a few hours after the nut is cracked. Discoloration can also occur after several weeks of storage of processed coconut water. Even though the mechanisms of PPO and POD activities are well described from a biochemical point of view [49], the same mechanisms remain to be explained during ripening of the fruit and post-harvest. A range of different factors affect the levels of activities of the enzymes and are often difficult to control (temperature, pH, mechanical impacts, oxygen concentration, etc.). To prevent the consequences of PPO and POD activities in coconut water, several authors suggested inactivating the enzymes by thermal treatments either using classical methods (pasteurisation, sterilisation) or by microwave heating.

At a low temperature (90 °C), total inactivation was obtained after 550 s for PPO and after 310 s for POD [50]. At a temperature of 139 °C for 10 s combined with 200 mg/l of ascorbic acid, PPO was entirely inactivated whereas POD was still active at 40% of its original level [51]. Contrary to Campos *et al.* [50] who underlined the fact that PPO was more resistant than POD to pasteurisation, Abreu and Faria [51] concluded that POD was inversely more thermostable using sterilisation. At temperatures below 90 °C, the POD of the coconut water is less thermostable than PPO, like strawberry [52] but unlike apple [53] or pineapple [54].

Other investigations of the kinetics of inactivation of the two enzymes indicated that the situation is more complex [55, 56]. In fact, two isoenzymes for PPO and POD are present in young coconut water. The thermal behaviour of the different fractions was analysed and quantified during pasteurisation. Two different mathematical equations were developed to predict the thermal resistance of PPO and POD fractions using the same type of multicomponent first-order model (Table 2).

TABLE 2

The thermal resistance of POD can be estimated by a D value, i.e. the time required to reduce the enzyme activity to 10% of its initial value. The temperature required for a D value of 5 min, which was 81.2°C for coconut water POD [57], was shown to be higher than 44.5 °C required for pepper [58], 75 °C for grape [59] and 80.3 °C for carrot [60] but slightly lower than 83.2 °C for potato [60].

Apart from classical thermal treatments, an unconventional technique, microwave heating, has been used to inactivate PPO and POD enzymes [57, 61]. First, the thermal behavior of solutions simulating the chemical constituents of coconut water (PPO/water, PPO/sugars, PPO/salts and PPO/sugars/salts, and equivalent for POD) was characterized. The influence of sugars and salts on enzyme activity was demonstrated. Sugars, especially fructose, were more

detrimental to POD than to PPO inactivation. Salts significantly affected PPO and POD stability. At temperatures above 77 °C, PPO was found to be more thermally resistant to microwave heating than POD, corroborating the results of Campos *et al.* [50]. The presence of salts in the simulated solutions combined with microwave heating reduced both enzymatic activities to undetectable levels. In addition, the thermal behavior of natural coconut water was compared to that of the simulated solutions [57]. It appeared that natural enzymes were more thermo-resistant than commercial ones. The authors used a first order kinetic model to describe the experimental results and determined *D* parameters for PPO, $D_{92,20^{\circ}\text{C}} = 52$ s and for POD, $D_{92,20^{\circ}\text{C}} = 16$ s. The thermal inactivation of both enzymes was faster with microwave processing than with conventional pasteurization.

A simple thermal treatment: refrigeration

Cold preservation of young coconut water has been studied by the FAO for a few years with the aim of extending the shelf-life of this fragile product. A manual entitled “Good Practice for the small-scale production of bottled coconut water” [62] was designed for use as a learning resource for small and micro entrepreneurs as well as a training resource for extension workers and trainers. The manual describes methods for harvest, storage conditions and sanitisation of the coconut fruits. It then explains how to extract, filter on cheese cloth, fill into bottles and store the coconut water at 4 °C. No peer-reviewed article was found on international data bases on this popular and frequently-used procedure for the preservation of coconut water.

Non-thermal treatments

Non-thermal treatments such as membrane filtration are interesting alternatives to stabilise delicate aromatic fruit juices. The original flavour of coconut water is sensitive to temperature and microfiltration (MF) could help to pasteurise the product at ambient temperature while preserving its aroma. Moreover ultrafiltration (UF) is used for the extraction of small molecules from a solution and enzymes, such as PPO and POD, are small molecules of respectively 73.8 kDa and 49.2 kDa [63].

Several authors tried to stabilise coconut water using either MF or UF (Table 3). The FAO has also taken out a patent [64] claiming that high speed centrifugation followed by microfiltration and aseptic packaging can preserve young coconut water for a period of at least six months.

TABLE 3

Working on a semi-industrial MF unit, [65] observed relatively high steady state flux at 150 l/h.m² and a loss of only 3% of coconut water at a VRF (Volumic Reduction Factor) of 25.

To prevent enzymatic discoloration, a few authors tried to use ultrafiltration immediately after microfiltration to remove PPO and POD from the coconut water. UF retained 92% and 91% of PPO and POD activity thanks to a 10 kDa cut-off membrane [65]. In all cases, PPO activity was considerably reduced and POD activity was undetectable. Equations were developed for ultrafiltration to estimate and predict its performance [66].

Another way to cope with coconut water pinking is to mix it with a colored fruit juice such as cashew apple juice [67-69], acerola [70] or maracuja [71]. The association of the two fruit juices combines their sensory and nutritional properties, while cumulating their respective advantages.

Other investigations tried to prevent “pinking” of CW by using different types of food-grade resins: polyvinylpolypyrrolidone (PVPP), calcium bentonite and gelatin [72], as commonly used in wine and beer processing. None of the tested resins was successful in controlling discoloration but further investigations are required to improve the experimental methodology. Continuous dense-phase CO₂ (DPCD), a very recent technology, also failed to prevent discoloration at ambient temperature [73].

Hence, from a microbiological point of view, microfiltration appears to be a satisfactory way to stabilise coconut water but has no effect on enzyme activity since the enzymes cross the membrane. Ultrafiltration retains PPO and POD enzymes. The discoloration of coconut water is still not completely elucidated. Thus, emerging technologies such as high pressure, pulsed electric field or ohmic heating should be investigated.

Shelf-life and quality of processed young coconut water

Few studies have dealt with the quality and shelf-life of processed coconut water. Concerning shelf-life, it is clear that neither classical thermal pasteurisation, nor sterilisation, nor microfiltration were sufficient to obtain a shelf-stable product without additives. Efficient results were obtained by adding molecules like nisin [43], ascorbic acid [50] or citric acid and sodium metabisulfite [74]. In these cases only, it was possible to preserve pasteurized coconut water for two to three months at ambient temperature or refrigerated. Sterilisation prolonged the shelf-life of coconut water to 10 months at ambient temperature and to 12 months at 4 °C [44]. The storage stability of the canned and bottled green coconut water was satisfactory but the addition of citric acid did change the taste of the processed product.

Microfiltration did not significantly influence pH, acidity, total soluble solids or total solids of clarified coconut water but increased clarity (measured as luminance L with a Hunter-Lab system), decreased turbidity and protein content by 24% [75]. With different equipment and

membranes, a similar increase in clarity, and a decrease of 13% in protein content and turbidity were also observed in clarified coconut water [76, 77]. Furthermore, microfiltration caused a significant decrease in the ash content of the permeate. K, Mg, Ca, Fe and Cu concentrations decreased by respectively 10, 16, 19, 20 and 22%. Only calcium concentrations remained stable. Physical properties such as surface tension and viscosity changed, whereas the specific gravity was not affected [76, 77].

Microfiltration obviously did not stop the pink coloration of the clarified coconut water. The pink coloration occurred in microfiltered coconut water from Dwarf varieties but not from Tall varieties when stored at ambient temperature. When stored at 9 to 10 °C just after processing, discoloration did not occur in any of the samples. But the samples from Dwarf varieties still became pink when placed at ambient temperature after cold storage [64, 65].

Finally, the taste of the microfiltered coconut water was found to be very similar to that of fresh coconut water but the aroma was lost during processing, even though the overall acceptability of the final product by a panel of consumers was good [76, 77].

Ultrafiltration retained PPO and POD enzymes. Retention percentages of protein of respectively 25, 38 and 43% for the 100, 50 and 20 kDa cut-off membranes were confirmed [66, 75]. The assessment of the effect of three different processes (ultrafiltration, pasteurisation and freezing) on the mineral composition of young coconut water showed that the ultrafiltration membrane retained most of the minerals present in coconut water. In contrast, pasteurisation tended to increase Cu, Fe and Zn concentrations whereas freezing completely changed the mineral distribution [78]. UF was able to retain PPO and POD enzymes but also retained minerals, and these are major quality criteria and a strong marketing argument for the young coconut water beverage.

As the market for processed CW is constantly growing in Brazil, Luviélmo *et al.* [79] performed a quantitative descriptive analysis of Brazilian branded coconut waters to compare the effects of different types of processing: freezing, pasteurisation and microwave heating. Contrary to microwave heated samples, the frozen coconut water samples showed the best values for typical characteristics of green coconut water. This is the first time a list of 12 descriptors has been drawn up for green coconut water by an expert jury. Unfortunately, this study was performed using commercialised samples of different origin and without a reference sample (i.e. fresh coconut water without treatment). Four other articles compared respectively 9, 3, 3 and 26 different coconut water brands sold in Brazilian supermarkets. Marked variability of the analysed samples was observed: De Sousa *et al.* [80] in mineral composition, Abreu *et al.* [81] in organoleptic quality, Pinheiro *et al.* [82] and Fortes *et al.* [83] in physicochemical and organoleptic

characteristics. This variability was nevertheless in accordance with the Brazilian standard. On the other hand, 100% of the analysed samples were microbiologically contaminated beyond legal limits.

Nunes *et al.* [84] studied the hygienic conditions and characteristics of commercial foods marketed in Brazil and especially fruit juices. They confirmed the previous results of Fortes *et al.* [83] regarding the bad hygienic conditions during processing and handling of young coconut fruits. They also confirmed results of an investigation by Walter *et al.* [85], who demonstrated that *Listeria monocytogenes* was a possible contaminant of young coconut water and grew easily on this media even at 4 °C. Therefore better care needs to be paid to packaging [86] and storage [87], training of the processors and vendors and adequate management of wastes during fruit juice processing.

Attention also needs to be paid to controlling the physicochemical and microbiological quality of young coconut product sold. As far as we know, only Brazil [83] and India [88] already have or will soon have official standards for processed young coconut water.

Conclusion and future prospects

Coconut water is not a common fruit juice and thus not easy to stabilize. Since its pH is high, it is subject to rapid deterioration. The Young Tender Coconut market could be a solution for regional markets but research on the preservation of the fruits will need future efforts especially in the coating and packaging fields. Concerning coconut water itself, thermal treatment combined with chemical additives are already used by the industry but other technologies such as micro and ultrafiltration are not yet available at industrial scale for CW. Microfiltration and ultrafiltration can preserve the taste of the fresh coconut water but not the aroma. UF can drastically change the mineral composition of coconut water. Whatever the process, taste, aroma and colour (linked to enzymatic activities) are still difficult to control. Therefore emerging technologies such as High Pressure, Pulsed Electric Field or Ohmic Heating should be investigated.

Coconut water extracted from young coconut fruits appears to be a natural healthy beverage and a good alternative to artificial sport drinks. Despite the lack of scientific knowledge on this raw material, the market for it is continuously expanding worldwide.

To satisfy demand, coconut producing countries have been planting Dwarf coconut palm trees for more than 10 years. Green Dwarf in Brazil, King coconut in Sri Lanka, Aromatic Green Dwarf (Nam hon) in Thailand, Chowgat Orange Dwarf in India are some of the most popular cultivars for tendernut consumption around the world. In the future, combined efforts by breeders, biochemists and food processing scientists accompanied by innovative manufacturers will

probably increase the quality of young coconut water and give a chance to millions of coconut smallholders to increase the value of their production.

Acknowledgements

The authors wish to acknowledge Dr. Olivier GIBERT and Mrs Daphne Goodfellow for the English revision of the manuscript.

References

- [1] Pieris W.V.D., L'eau de coco, constituant liquide de l'endosperme de la noix de coco. Note sur la terminologie. *Oleagineux*. 26 (1971) 383-390.
- [2] Woodroof J.G., Coconut storage and processing, and minor uses of products of the coconut tree, in: AVI (Ed.), *Coconuts : production, processing, products*, Westport, 1970.
- [3] Batugal P.A., Ramanatha Rao V., Bong C., Promoting multi-purpose uses and competitiveness of the coconut, in: Batugal P.A., Ramanatha Rao V., Bong C.E. (Eds.). *IPGRI, Chumphon, Thaïlande*, 1996.
- [4] Chandrasekharan V.G., Remany G., Mathew T.M., Exploring Trade Opportunities for coconut Products - An Experience From New Delhi. *Indian Coconut Journal*. 35 (2004) 22-24.
- [5] De Leon S.Y., Delores M.I., Coconut, in: Barrett D.M., Somogyi L.P., Ramaswamy H.S. (Eds.), *Processing fruits : science and technology*. Boca Raton, Florida, Boc, 2005.
- [6] Steiner I., Desser A., Coconut water - composition, properties and processing. *Ernährung*. 32 (2008) 513-516.
- [7] Dupaigne P., Un jus de fruit peu ordinaire : l'eau de coco. *Fruits*. 26 (1971) 625-627.
- [8] Prades A., Dornier M., Diop N., Pain J.P., Coconut water: its preservation and processing. Part II. *Fruits*. in press (2012b).
- [9] Saat M., Singh R., Gamini Sirisinghe R., Nawawi M., Rehydration after Exercise with Fresh Young Coconut Water, Carbohydrate-Electrolyte Beverage and Plain Water. *Journal of Physiological Anthropology and Applied Human Science*. 21 (2002) 93-104.
- [10] Rao G.V.S., Naik B.J., Giridharan M.P., Stephen R., Balakrishnan P.C., Identification of superior coconut cultivars suitable for tender nut purpose. *Journal of Plantation Crops*. 36 (2008) 204-206.

- [11] Anzaldo F.E., Kintinar Q.L., Recto P.M., Velasco R.U., De La Cruz F., Jacalne A., Coconut water as intravenous fluid. *Philippine Journal of Coconut Studies*. 10 (1985) 31-43.
- [12] Gatchalian M.M., De Leon S.Y., Yano T., Comparative Profiles of young coconut (*Cocos nucifera*, L.) from fresh and stored nuts. *Food Quality and Preference*. 4 (1993) 193-200.
- [13] Ranasinghe C.S., Wimalasekara R., Technical guidelines to enhance shlef-life of tender King coconut for the export market. *Indian Coconut Journal*. 37 (2006) 17-19.
- [14] Thamban C., Subashbabu K., Venugopal R., Muralidharan K., Integrated approach for marketing of minimally processed tender coconuts. *Indian Coconut Journal*. 37 (2007) 2-7.
- [15] Consignado T.O., Tabora P.C., Creencia R.P., Physico-chemical changes in stored young coconut. *Philippine Agriculturist*. 60 (1976) 256-270.
- [16] Maciel M.I., Oliveira S.L., Da Silva I.P., Effects of different storage conditions on preservation of coconut (*Cocos nucifera*) water. *Journal of Food Processing and Preservation*. 16 (1992) 13-22.
- [17] Queiroz R., Aroucha E., Tomaz H., Pontes F., Ferreira R., Sensorial analyse of the coconut water during the fruits storage of the green dwarf coconut *Revista caatinga*. 22 (2009) 1-1.
- [18] Walter E., Nascimento M., Kuaye A., Efficacy of sodium hypochlorite and peracetic acid in sanitizing green coconuts. *Letters in applied microbiology*. 49 (2009b) 366-371.
- [19] De Assis J.S., Resende J.M., Oliveira e Silva F., Ribeiro dos Santos C., Nunes F., Harvest and post-harvest techniques for green coconut. - *Tecnicas para colheita e pos-colheita do coco verde*. Comunicado Tecnico da Embrapa Semi-Arido. (2000) 6 pp.
- [20] Jarimopas B., Kusun P., A young-coconut-fruit-opening machine. *Biosystems Engineering*. 98 (2007a) 185-191.
- [21] Jarimopas B., Ruttanadat N., Development of a young coconut fruit trimming machine. *Journal of Food Engineering*. 79 (2007b) 752-757.
- [22] Wazir S.K.S., Technologies on environment-friendly young tender coconuts, in: APCC (Ed.), *Proceedings of Cocotech Meeting*. APCC, Manila, The Philippines, 1997.
- [23] Raju V., K, Zahida P., M, Minimal processing of tender coconut. *Indian Coconut Journal*. 37 (2007) 22-23.
- [24] Viana F.M.P., Uchoa C.N., Vieira I.G.P., Freire F.C.O., Saraiva H.A.O., Mendes F.N.P., Minimal processing, modified atmosphere, chemical products and cooling to control post-harvest basal rot of fresh green coconut fruits (*Cocos nucifera*). *Summa Phytopathologica*. 34 (2008) 326-331.

- [25] Sison B.C.J., Disposal of coconut processing waste. *The Philippine journal of coconut studies*. 11 (1977) 39-41.
- [26] Pramith P., Oil separation from coconut water by microfiltration method, Report No. 62 17. National Food Research Institute, Tsukuba, Ibaraki, Japan, 1998.
- [27] Joson L., Coconut water utilization. *Coconuts Today*. 7 (1989).
- [28] Wickramasinghe R.H., Biomedical and environmental aspects of some coconut-derived products and their production processes in Sri Lanka. *Cocos*. 13 (1998-1999) 8-20.
- [29] Del Rosario E.J., Papa G.M., Reyes C.S., Concentration of coconut water by plate-and-frame reverse osmosis using composite membranes. *Philippine Journal of Coconut Studies*. 13 (1988) 36-42.
- [30] Sanchez P.C., Collado L.S., Gerpacio C.L., Lapitan H., Village level technology of processing coconut water vinegar. *The Philippine Agriculturist*. (1985) 439-448.
- [31] Angeles O.R., Baraquio W.L., Dalmacio I.F., Segubre E.M., Optimization and cost of xanthan gum production from coconut water by *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* NRRL 1459. 29. Annual Convention of the Philippine Society for Microbiology, Inc. Laoag, Ilocos Norte (Philippines). 10-11 May 2000., 2000
- [32] Prasad V., Reeja S., Development of a selective media for Bifidobacteria using coconut water. *Indian Journal of Dairy Science*. 59 (2006) 144-150.
- [33] Banzon A.J., Gonzalez O.N., De Leon S.Y., Sanders P.C., Coconut as food, Quezon City, Philippines, 1990.
- [34] Alaban C.A., Studies on the optimum conditions for "nata de coco" bacterium or "nata" formation in coconut water. *The Philippine Agriculturist*. 45 (1962) 490-516.
- [35] Budhiono A., Rosidi B., Taher H., Iguchi M., Kinetic aspects of bacterial cellulose formation in nata-de-coco culture system. *Carbohydrate Polymers*. 40 (1999) 137-143.
- [36] Hegde S.V., Bio-confectionaries from coconut water. *Indian Food Packer*. (1996) 50-52.
- [37] Iguchi M., Yamanaka S., Budhiono A., Bacterial cellulose : a masterpiece of nature's arts. *Journal of Materials Science*. 35 (2000) 261-270.
- [38] Nishi Y., Uryu M., Yamanaka S., Watanabe K., Kitamura N., Iguchi M., Mitsuhashi S., The structure and mechanical properties of sheets prepared from bacterial cellulose. II. Improvement of the mechanical properties of sheets and their applicability to diaphragms of electroacoustic transducers. *Journal of Materials Science*. 25 (1990) 2997-3001.
- [39] Sabularse V., Montalbo M., Hernandez H., Serrano E., Preparation of nata de coco-based carboxymethylcellulose coating and its effect on the post-harvest life of bell pepper

- (*Capsicum annuum* L.) fruits. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 60 (2009) 206-218.
- [40] Jagannath A., Kalaiselvan A., Manjunatha S.S., Raju P.S., Bawa A.S., The effect of pH, sucrose and ammonium sulphate concentrations on the production of bacterial cellulose (nata-de-coco) by *Acetobacter xylinum*. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*. 24 (2008) 2593-2599.
- [41] Magda R.R., Coco-softdrink: health beverage from coconut water. *Food Marketing & Technology*. (1992) 22-23.
- [42] Montenegro H.M., Coconut oil and its byproducts. *Journal of American Oil Chemistry and Science*. 62 (1985) 259-261.
- [43] Srivatsa A.N., Sankaran R., Preservation of tender coconut water in polymeric pouches and metal cans. *Indian Coconut Journal*. May & June (1995) 13.
- [44] Chowdhury M.M., Aziz M.G., Uddin M.B., Development of Shelf-stable Ready-to-serve Green Coconut Water. *Biotechnology*. 4 (2005) 121-125.
- [45] Costa L.M.C., Maia G.A., Costa J.M.C., de Figueiredo R.W., de Souza P.H.M., Evaluation of coconut water obtained by different methods of conservation - Avaliacao de agua-de-coco obtida por diferentes metodos de conservacao. *Ciencia e Agrotecnologia (Brazil)*. 29 (2005) 1239-1247.
- [46] Tzeng E., Chen H.E., Preventing nonenzymatic browning in coconut water during sterilization. *Food Science (Taiwan)*. 25 (1998) 304-313.
- [47] Gabriel A.A., Cruz K.G.S., Guzman J.A.D.D., Thermal death times of *Escherichia Coli* in young coconut endosperm beverage. *Journal of Food Processing and Preservation*. 33 (2009) 136-144.
- [48] Fontan R.d.C.I., Santos L.S., Bonomo R.C.F., Lemos A.R., Ribeiro R.P., Veloso C.M., Thermophysical properties of coconut water affected by temperature. *Journal of Food Process Engineering*. 32 (2009) 382-397.
- [49] Fox P.F., *Food enzymology*. Elsevier Science Publishers Ltd., Barking IG11 8JU, UK, 1991.
- [50] Campos C.F., Souza P.E.A., Coelho J.V., Gloria M.B.A., Chemical composition, enzyme activity and effect of enzyme inactivation on flavor quality of green coconut water. *Philippine Journal of Coconut Studies*. 20 (1996) 487-500.
- [51] Abreu L.F., Faria J. de A.F., Temperature and ascorbic acid effects in physico-chemical stability and enzymatic activity of coconut water (*Cocos nucifera* L.) aseptic filled - Influencia da temperatura e do acido ascorbico sobre a estabilidade fisico-quimica e

- atividade enzimática da água de coco (*Cocos nucifera* L.) acondicionada assepticamente. *Ciencia e Tecnologia de Alimentos*. 27 (2007) 226-232.
- [52] Terefe N.S., Yang Y.H., Knoerzer K., Buckow R., Versteeg C., High pressure and thermal inactivation kinetics of polyphenol oxidase and peroxidase in strawberry puree. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 11 (2010) 52-60.
- [53] Valderrama P., Marangoni F., Clemente E., Effect of thermal treatments on peroxidase (POD) and polyphenoloxidase (PPO) activities of apple (*Mallus comunis*). *Ciencia e Tecnologia de Alimentos*. 21 (2001) 321-325.
- [54] Lee T.H., Chua L.S., Tan E.T.T., Yeong C., Lim C.C., Ooi S.Y., Aziz R.B., Aziz A.B., bin Sarmidi M.R., Kinetics of Thermal Inactivation of Peroxidases and Polyphenol Oxidase in Pineapple (*Ananas comosus*). *Food Science and Biotechnology*. 18 (2009) 661-666.
- [55] Kikuda A.T., Tadini C.C., Fernandes R., Modelo de primeira ordem multicomponente para inativação térmica em processo descontínuo da peroxidase e polifenoloxidase presentes na água de coco verde (*Cocos nucifera* L.), in: CBCTA A.d.X. (Ed.), XVIII Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Porto Alegre, Brazil, 2002.
- [56] Murasaki-Aliberti N.D., da Silva R.M.S., Gut J.A.W., Tadini C.C., Thermal inactivation of polyphenoloxidase and peroxidase in green coconut (*Cocos nucifera*) water. *International Journal of Food Science and Technology*. 44 (2009) 2662-2668.
- [57] Matsui K., N, Gut J., A, W, Oliveira P., V, de, Tadini C., C, Inactivation kinetics of polyphenol oxidase and peroxidase in green coconut water by microwave processing. *Journal of Food Engineering*. 88 (2008) 169-176.
- [58] Serrano-Martínez A., Fortea M.I., del Amor F.M., Núñez-Delicado E., Kinetic characterisation and thermal inactivation study of partially purified red pepper (*Capsicum annuum* L.) peroxidase. *Food Chemistry*. 107 (2008) 193-199.
- [59] Fortea M.I., López-Miranda S., Serrano-Martínez A., Carreño J., Núñez-Delicado E., Kinetic characterisation and thermal inactivation study of polyphenol oxidase and peroxidase from table grape (Crimson Seedless). *Food Chemistry*. 113 (2009) 1008-1014.
- [60] Anthon G.E., Barrett D.M., Kinetic parameters for the thermal inactivation of quality-related enzymes in carrots and potatoes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50 (2002) 4119-4125.
- [61] Matsui K.N., Granado L.M., de Oliveira P.V., Tadini C.C., Peroxidase and polyphenol oxidase thermal inactivation by microwaves in green coconut water simulated solutions. *LWT - Food Science and Technology*. 40 (2007) 852-859.

- [62] Rolle R., Good practice for the small-scale production of bottled coconut water, Agricultural and food engineering training and resource materials. FAO, Rome, 2007.
- [63] Duarte A.C.P., Coelho M.A.Z., Leite S.G.F., Identification of peroxidase and tyrosinase in green coconut water. *Ciencia y Tecnologia Alimentaria*. 3 (2002) 266-270.
- [64] Satin M., Amorrigi G., Coconut Beverage. FOOD AND AGRICULTURE ORGANISATION OF THE UNITED NATIONS, Italy, 1998.
- [65] Diop N., Caractérisation physico-chimique de l'eau de la noix de coco verte (*Cocos nucifera* L.) et essais de stabilisation par techniques membranaires. ENSIA-SIARC, Montpellier, France, Master thesis, 2005, 132 p.
- [66] Jayanti V., Rai P., Dasgupta S., De S., Quantification of flux decline and design of ultrafiltration system for clarification of tender coconut water. *Journal of Food Process Engineering*. 33 (2010) 128-143.
- [67] De Carvalho J., Maia G., De Figueiredo R., De Brito E., Rodrigues S., Storage stability of a stimulant coconut water-cashew apple juice beverage. *Journal of Food Processing and Preservation*. 31 (2007a) 178-189.
- [68] De Carvalho J., Maia G., De Figueiredo R.D., De Brito E.D., Rodrigues S., Development of a blended beverage consisting of coconut water and cashew apple juice containing caffeine. *International Journal of Food Science and Technology*. 42 (2007b) 1195-1200.
- [69] De Carvalho J.M., Maia G.A., Brito E.S.d., Crisostomo L.A., Rodrigues S., Composicao mineral de bebida mista a base de agua-de-coco e suco de caju clarificado.; Mineral composition of mixed drink composed of coconut water and clarified cashew apple juice. *Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos*. 24 (2006b) 1-12.
- [70] Lima A., Maia G., de Sousa P., do Prado G., Rodrigues S., Storage stability of a stimulant coconut water-acerola fruit juice beverage. *International Journal of Food Science and Technology*. 44 (2009) 1445-1451.
- [71] Da Silva F.V.G. , Maia G.A., de Sousa P.H.M., Lima A. da S., da Costa J.M.C., de Figueiredo E.A.T., Evaluation of the stability of mixed beverage elaborated with coconut water and passion fruit juice - Avaliacao da estabilidade de bebida mista elaborada com agua de coco e suco de maracuja. *Acta Scientiarum Technology*. 28 (2006a) 191-197.
- [72] Garcia B., Masa D.B., Rodriguez M.J., Rolle R., Control of pink discoloration in coconut water. *Cord*. 23 (2007) 67-83.
- [73] Damar S., Balaban M., Sims C., Continuous dense-phase CO₂ processing of a coconut water beverage. *International Journal of Food Science and Technology*. 44 (2009) 666-673.

- [74] Costa L.M.C., Maia G.A., da Costa J.M.C. de Figueiredo R.W., Rodrigues M. do C. P., de Sousa P.H.M., Pinheiro A.M., Qualidade e vida de prateleira da água de coco obtida pelo processo de enchimento a quente. *Revista Brasileira de Armazenamento*. 31 (2006) 95-102.
- [75] Magalhaes M.P., Gomes F.d.S., Modesta R.C.D., Matta V.M.d., Cabral L.M.C., Conservation of green coconut water by membrane filtration. *Ciência y Tecnología Alimentaria*. 25 (2005) 72-77.
- [76] Reddy K., Das M., Das S.K., Nonthermal sterilization of green coconut water for packaging. *Journal of Food Quality*. 30 (2007) 466-480.
- [77] Reddy K.V., Das M., Das S.K., Filtration resistances in non-thermal sterilization of green coconut water. *Journal of Food Engineering*. 69 (2005) 381-385.
- [78] Naozuka J., Murasaki N.C., Tadini C.C., De Oliveira P.V., Estudo da Influência de Processos de Conservação na Distribuição de Espécies Elementares em Água de Coco, in: CBCTA A.d.X. (Ed.), XIX Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Recife, Brazil, 2004.
- [79] Luvielmo M.d.M., Vasconcelos M.A.M.d., Marques G.R., Silva R.P.G.d., Damasio M.H., Influencia do processamento nas características sensoriais da água-de-coco. Influence of processing in the sensorial characteristics of coconut water. *Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos*. 22 (2004) 253-270.
- [80] De Sousa R.A., Silva J.C., Baccan N., Cadore S., Determination of metals in bottled coconut water using an inductively coupled plasma optical emission spectrometer. *Journal of Food Composition and Analysis*. 18 (2005) 399-408.
- [81] Abreu L., F, Araujo A., V, Araujo E., A, F, El A., A, A, Neumann D., Morais M., M, Silva M., A, A, P, da, Sensorial profile and acceptance of coconut water samples obtained from different manufacturing processes - Perfil sensorial e aceitabilidade de amostras de água-de-coco obtidas por diferentes processos de fabricacao. *Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos*. 23 (2005) 397-412.
- [82] Pinheiro A.M., Machado P.H., Correia da Costa J.M., Maia G.A., Fernandes A.G., do Carmo Passos Rodrigues M., Herreyra Hernandez F.F., Caracterização química, físico-química, microbiológica e sensorial de diferentes marcas de água de coco pelo processo aséptico. Chemical, physical-chemical, microbiological and sensorial characterization of different coconut waters obtained by aseptic process. *Revista Ciência Agrônômica*. 36 (2005) 209-214.

- [83] Fortes E.P., Lima A.d., Cronemberger M.G. de O., Crispim L. da S., Physico-chemical and microbiological quality of water of packaged coconuts, commercialized in Teresina, Piaui - Qualidade fisico-quimica e microbiologica das aguas-de-coco envasadas, comercializadas em Teresina, Piaui. *Higiene Alimentar*. 20 (2006) 87-90.
- [84] Nunes B.N., Cruz A.G., Faria J.A.F., Sant' Ana A.S., Silva R., Moura M.R.L., A survey on the sanitary condition of commercial foods of plant origin sold in Brazil. *Food Control*. 21 (2010) 50-54.
- [85] Walter E., Kabuki D., Esper L., Sant'Ana A., Kuaye A., Modelling the growth of *Listeria monocytogenes* in fresh green coconut (*Cocos nucifera* L.) water. *Food Microbiology*. 26 (2009a) 653-657.
- [86] Gobin A., Falade K., Akingbala J., Effect of packaging on physical, chemical and sensory attributes of coconut water during storage. *Journal of Food Agriculture & Environment*. 7 (2009) 62-65.
- [87] Cesario M.C.d.P., Andrade M.V.V., Coelho A.A., Pereira S.M.d.F., Martins M.L.L., Henry F.d.C., Physicochemical evaluation of coconut water. *Higiene Alimentar*. 23 (2009) 39-42.
- [88] Sabapathy S.N., Bawa A.S., Standards for packed and preserved tender coconut water. *Indian Coconut Journal*. 38 (2007) 2-8.

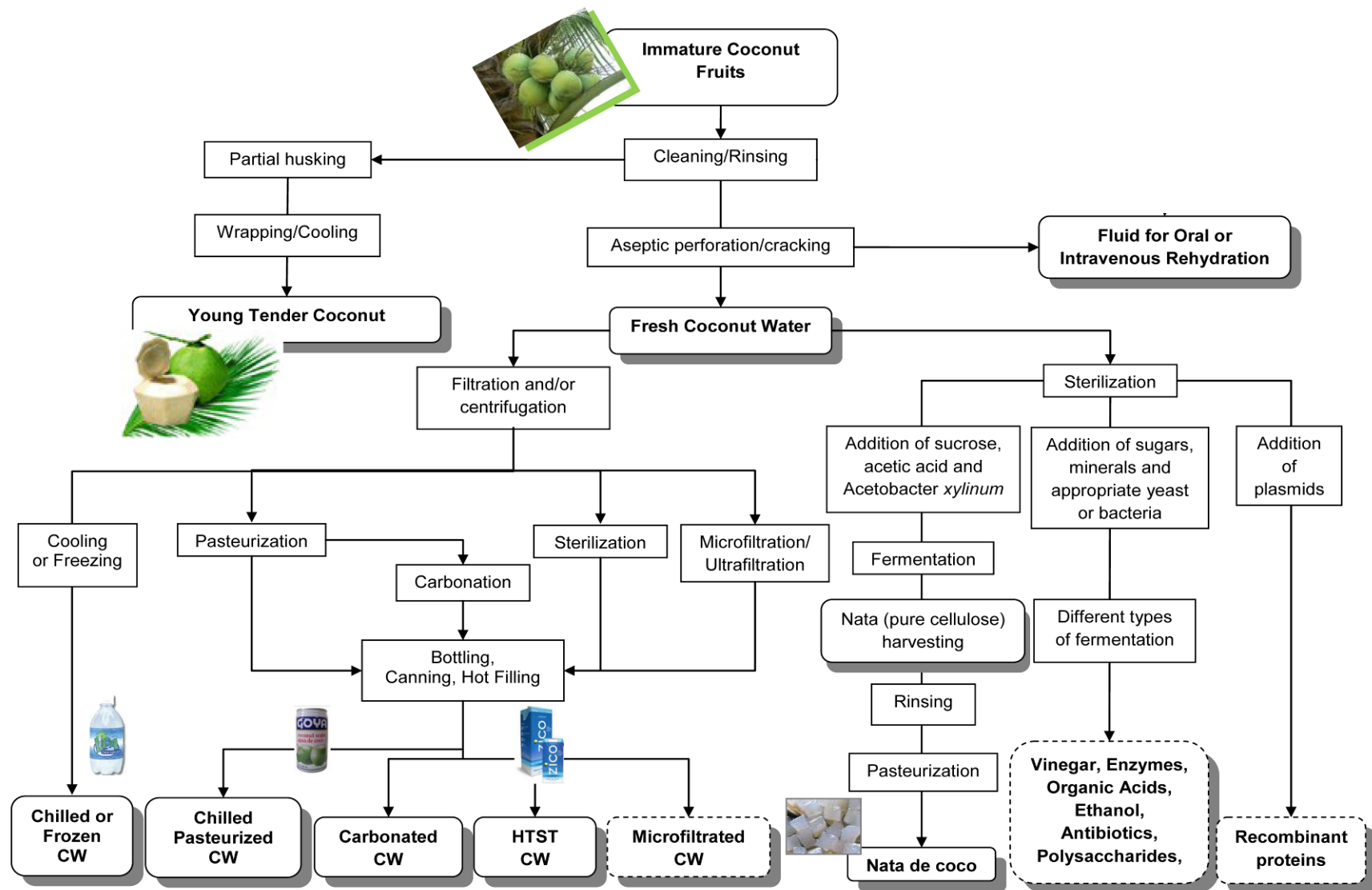


Figure 1: Flow diagram of the different methods of processing young coconut fruits

Table 1: Experimental values of thermophysical properties of coconut water and equations for their prediction (adapted from Fontan *et al.* [48])

		Temperature (°C)						Equations
		5	20	35	50	65	80	
Density	ρ (kg/m ³)	1021.72	1016.75	1011.33	1007.12	1000.03	996.72	$\rho = 1023.4651 - 0.3416 * T$
Thermal diffusivity	α (10 ⁻⁷ m ² /s)	1.36	1.39	1.46	1.50	1.55	1.58	$\alpha = 1.3434 \times 10^{-7} + 3,119 \times 10^{-10}.T$
Dynamic viscosity	μ (10 ⁻³ Pa.s)	1.54	1.00	0.69	0.45	0.43	0.36	$\mu = 2.838 \times 10^{-4} + 1.540 \times 10^{-3}e^{-3.956 \times 10^{-2}.T}$
Specific Heat	c_p (J/kg.°C)	4056.5						$c_p = \frac{(c_w m_w + C_{cal})(T_{eq} - T_0)}{m_s(T_s - T_{eq})}$ <p>with</p> $C_{cal} = \frac{m_h c_w (T_h - T_{eq}) - m_c c_w (T_{eq} - T_c)}{(T_{eq} - T_c)}$
Thermal conductivity	K (W/m.°C)	0.56	0.57	0.60	0.61	0.63	0.64	$K = 0.5581 + 1.08 \times 10^{-3}.T$

Table 2: Mathematical models of PPO and POD thermal inactivation in coconut water

			Coefficient of multicomponent first-order model							
Enzyme	Activity (U/ml.min)	T (°C)	Model	a	k ₁ (s ⁻¹)	k ₂ (s ⁻¹)				R ²
PPO	16.5	80	$\frac{A}{A_0} = a * e^{-k_1 t} + (1 - a) * e^{-k_2 t}$	0.6559	1.70E-03	1.98E-03				0.938
POD	3.6	80		0.5826	2.19E-02	-7.12E-04				0.893
		85		0.2068	1.28E+00	3.01E-03				0.953
		90		0.5983	2.36E-02	2.39E-02				0.970
PPO	0.15 - 34.8	75	$\frac{A}{A_0} = \alpha * \frac{A_1}{A_{01}} + (1 - \alpha) * \frac{A_2}{A_{02}}$	T _{ref} (°C)	α (% of activity of isoenz.1)	D ₁ (s)	Z ₁ (°C)	D ₂ (min)	Z ₂ (°C)	R ²
		80		86.9	0.88	6.0	5.7	11.3	5.5	0.82
		85								
POD	0.13 - 6.18	75	$D_1 = D_{T_{ref1}} * a \log\left(\frac{T_{ref} - T}{z_1}\right) \quad D_2 = D_{T_{ref2}} * a \log\left(\frac{T_{ref} - T}{z_2}\right)$	86.9	0.95	8.6	3.4	26.3	6.9	0.74
		80								
		85								

Table 3: Microfiltration and ultrafiltration conditions of immature coconut water

	Membrane porosity or molecular weight	Surface (m ²)	Membrane	Temperature (°C)	Transmembrane Pressure	Filtration type	Permeate flux (L/h.m ²)	References
Microfiltration (MF)	0.2 µm	n.a.	n.a.	6°C	n.a.	n.a.	n.a.	[64]
	0.1 µm	0.72	Plate and frame polysulfone	25°C	200 kPa	Dead-end	20	[75]
	0.2 µm	0.22	Tubular ceramic	20-25°C	140-158 kPa	Cross Flow 7 m/s	150	[65]
	0.2 µm	0.013	Plate and frame cellulose nitrate	20°C	16 kPa	Dead-end	n.a.	[76, 77]
Ultrafiltration (UF)	0.1 and 0.025 µm	n.a.	Plate and frame cellulose ester	n.a.	n.a.	Dead-end	n.a.	[78]
	10, 30 and 50 kDa	0.09	Plate and frame regenerated cellulose (10 kDa) and polyethersulfone (30 and 50 kDa)	25°C	60 kPa	Dead-end	n.a.	[65]
	20, 50 and 100 kDa	0.72	Plate and frame polysulfone	25°C	200 kPa	Dead-end	5	[75]
	50 kDa	0.0035	Plate and frame thin film composite polyamide	Ambient temperature	276-690 kPa	Stirred cell 800-1600 rpm	25-130	[66]

n.a.: not available

Synthèse de l'article

L'eau de coco est un fluide difficile à stabiliser car il est peu acide, contient des sucres fermentescibles et des enzymes de type peroxydase et polyphénoloxydase qui dégradent rapidement le produit après extraction de la noix. Ces deux types d'enzymes oxydent les substrats phénoliques présents dans l'eau de coco en quinones. Ces dernières se polymérisent ensuite pour former des pigments bruns stables dont la présence vient modifier la couleur du jus de fruit.

Dans la noix, l'eau de coco est stérile et la meilleure façon de la conserver est encore de la garder dans son « emballage » naturel. Les débouchés de ces produits peu transformés sont malheureusement cantonnés aux marchés régionaux ou locaux. L'expansion de ce produit à l'export ne peut se concevoir que pour des variétés produisant de petites noix avec un fort ratio poids eau/poids noix ou pour des noix partiellement débourrées. Elle est également conditionnée à la mise au point de prétraitements efficaces des noix (trempage dans des solutions de conservateurs, enrobage avec des cires). A cet effet, des études de stockage réfrigéré, d'emballage dans des films plastiques de différentes sortes ont été menées.

Une solution alternative à cette situation consiste à extraire l'eau de coco de la noix près des cocoteraies, à la stabiliser et à l'exporter. Ceci implique l'utilisation de procédés thermiques ou athermiques de stérilisation. L'arsenal des opérations unitaires classiques aujourd'hui disponible a été testé sur l'eau de coco. Des essais de pasteurisation, de stérilisation par les méthodes conventionnelles et par microondes ont démontré leur efficacité sur l'inactivation des enzymes POD et PPO et la stabilisation microbiologique du produit. Cependant, les résultats des travaux menés jusqu'à ce jour montrent qu'un traitement thermique seul ne peut conduire à un produit stable que s'il est associé à un ajout d'additif de type acide ascorbique et métabisulfite de sodium. De plus, dans ces conditions, la saveur du produit est systématiquement altérée.

Des traitements athermiques de type microfiltration et ultrafiltration ont également été testés et ont donné des résultats satisfaisants. La microfiltration est efficace pour réaliser une stérilisation à froid mais ne retient pas les enzymes responsables du changement de couleur du produit. L'ultrafiltration est efficace en termes de stérilisation et de rétention enzymatique mais aurait un impact sur l'arôme et les sels minéraux. Cependant, très peu d'études ont été publiées sur les traitements membranaires de l'eau de coco.

II.3.2.- Le chauffage ohmique

II.3.2.1. - Généralités et principe

Généralités

Le chauffage ohmique, bien que qualifié de technologie émergente ou innovante, n'est pas nouveau. Il consiste à faire passer un courant électrique dans le produit à traiter. Les premiers brevets concernant ses applications ont été déposés avant 1900 aux Etats-Unis (Fowler, 1882). Mais ce n'est que récemment que cette technologie a de nouveau pris son essor grâce aux travaux de Simpson (1981).

L'arrivée d'un nouveau type d'électrodes et le développement des technologies d'emballage aseptique en ligne ont permis l'industrialisation du chauffage ohmique mais ce n'est qu'en 1992 que le procédé obtient les agréments « Advisory Committee for Novel Food Processes » (Grande-Bretagne) et « Food and Drug Administration » (Etats-Unis).

Les produits habituellement traités par chauffage ohmique en industrie alimentaire sont des liquides et des mélanges de liquides et particules en suspension (Munch *et al.*, 2009). Ce sont des produits pour lesquels les techniques de stérilisation conventionnelles ne sont pas ou peu adaptées. De manière générale, les produits hétérogènes pâteux, visqueux, avec des morceaux (cas de plats cuisinés par exemple) (Benabderrahmane et Pain, 2000 ; Goullieux et Pain, 2005 ; Legrand *et al.*, 2007), les produits très encrassant en chauffage conventionnel comme le lait (Ayadi *et al.*, 2004) ou les laits infantiles (Roux *et al.*, 2009) et les produits thermosensibles comme les jus de fruits (Leizerson et Shimoni, 2005a ; Vikram *et al.*, 2005) sont également traités aujourd'hui avantageusement par chauffage ohmique.

Emmepiemme SRL, Piacenza, Italie, est le leader européen des équipementiers en chauffage ohmique. La société italienne a installé plus de 35 unités de chauffage ohmique de par le monde travaillant sur des secteurs aussi variés que l'alimentation infantile, le blanchiment des légumes, les nectars, jus et purées de fruits, les sauces tomates, les soupes ou encore la charcuterie. Simaco, Bouzonville, France et CFT (Catelli Food Technology), Parme, Italie sont deux autres équipementiers proposant d'intégrer des cellules de chauffage ohmique et travaillant, pour l'essentiel, en collaboration avec Emmepiemme.

L'avantage du chauffage ohmique est que son efficacité de conversion énergétique est supérieure à celle des procédés utilisant les micro-ondes par exemple. Plus de 90 % de l'énergie apportée au produit est convertie en chaleur dans l'aliment. Ainsi, l'aliment est chauffé très rapidement. Les vitesses de chauffe en traitement ohmique sont souvent supérieures à 1°C.s^{-1} , ce qui permet à la technologie d'être bien positionnée pour les

traitements « HTST : High Temperature-Short Time ». Si les particules et le liquide dans lequel elles se trouvent ont la même conductivité électrique, il n'y aura pas de différence de température entre les deux éléments et donc, pas de « points chauds ». Ceci est impossible à obtenir par chauffage conventionnel. L'absence de points chauds ou de surfaces chauffantes assurant le transfert thermique favorise un traitement homogène du produit et limite les risques d'encrassement ou de dégradation de produits thermosensibles. A contrario, si le liquide et les particules à traiter ont des conductivités électriques différentes, les phénomènes de transferts de chaleur à l'intérieur du produit deviennent extrêmement complexes et leur modélisation nécessite des outils mathématiques et numériques (Salengke et Sastry, 2007). Des points « froids » peuvent également apparaître dans le produit traité et les valeurs pasteurisatrices ou stérilisatrices exigées par les normes de sécurité sanitaire ne seront pas atteintes de façon uniforme dans la matrice. Ceci peut générer des risques élevés de recontamination par des spores bactériennes thermorésistantes si le produit est peu acide et se trouve stocké à température ambiante.

Principe

Le chauffage ohmique ou chauffage à effet Joule est un procédé de chauffage volumique obtenu par passage direct d'un courant électrique dans le produit. Ce dernier est placé entre deux électrodes alimentées par une source de tension alternative. Si les résistances électriques des électrodes et des parois en contact avec le produit sont plus faibles que celles du produit lui-même, le champ électrique va préférentiellement traverser celui-ci et la chaleur va se dissiper à plus de 90% dans le produit.

Selon le positionnement des électrodes et donc des lignes de champs électriques par rapport au mode de circulation du produit, trois types de dispositif se rencontrent (Figure 4).

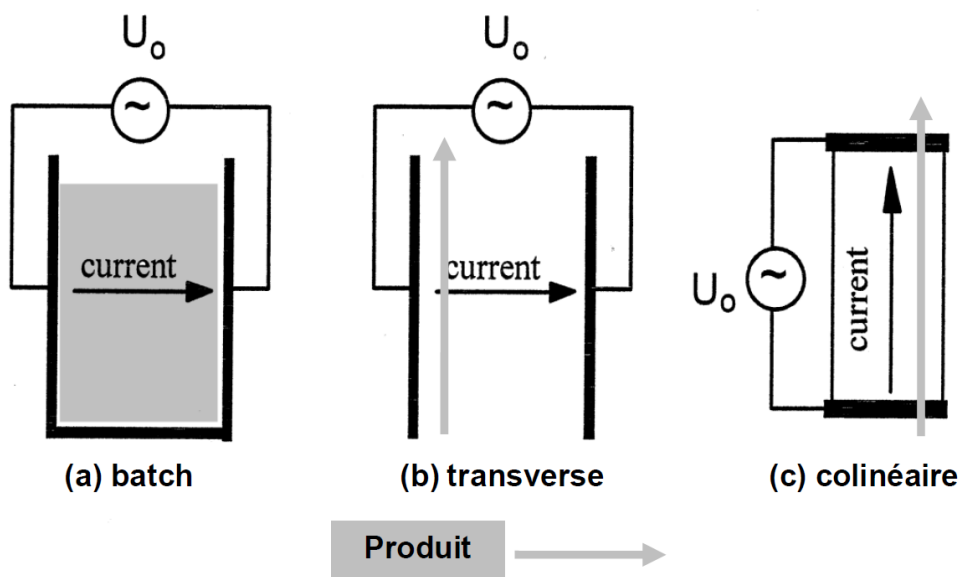


Figure 4. Schéma de principe du chauffage ohmique en batch (a), en mode continu transverse (b) et en mode continu colinéaire (c) (d'après Goullieux et Pain, 2005)

Le premier dispositif en mode batch est principalement utilisé à l'échelle du laboratoire. Il permet de réaliser des études de faisabilité et de tester les réactions du produit à traiter avant le passage aux essais semi-industriels et industriels. La deuxième configuration, en mode continu et transverse, présente les champs électriques perpendiculairement aux lignes de courant du fluide. Ce mode pose souvent des problèmes d'érosion des électrodes et est mieux adapté aux traitements des fluides sans particules. Dans la troisième configuration, le champ électrique est parallèle aux lignes de courant du produit. Les électrodes sont espacées et leur surface de contact avec le produit est faible. Ce mode de fonctionnement est le plus couramment rencontré dans l'industrie à ce jour.

Le principe du chauffage ohmique repose sur la loi d'Ohm qui s'écrit

$$U = \Omega * I = \frac{e}{S * \sigma} * I \quad (\text{éq.1})$$

Avec U la tension (V), Ω la résistance électrique (ohm), I l'intensité (A), e la longueur (m) et S la section de l'élément traversé par le courant électrique (m^2), σ , la conductivité électrique du produit (S.m^{-1}). La puissance P fournie (W) par le générateur est donnée par

$$P = U * I \quad (\text{éq. 2})$$

Le volume V de produit (m^3) situé entre deux électrodes de surface S (m^2) séparées par une distance e (m) est soumis à un champ électrique E ($V.m^{-1}$) dont l'intensité est proportionnelle à la tension U appliquée aux électrodes et à l'inverse de la distance e (m) entre les deux électrodes :

$$E = \frac{U}{e} \quad (\text{éq. 3})$$

La densité de courant J ($A.m^{-2}$) qui circule dans le volume V dépend de la surface S (m^2) et de l'intensité du courant I (A) appliqué aux électrodes

$$J = \frac{I}{S} \quad (\text{éq.4})$$

Au cours du chauffage ohmique, on considère que la puissance électrique délivrée par le générateur est entièrement dissipée dans le volume de produit en contact avec les électrodes. Ce volume reçoit une puissance volumique P_v ($W.m^{-3}$) proportionnelle à la conductivité électrique du produit σ ($S.m^{-1}$) et au carré de l'intensité du champ électrique

$$P_v = E^2 * \sigma \quad (\text{éq.5})$$

En combinant les équations 1, 3 et 4, le champ électrique s'exprime également :

$$E = \frac{J}{\sigma} \quad (\text{éq.6})$$

La conductivité électrique du produit peut s'exprimer en fonction de la géométrie de la cellule à partir de l'équation 1

$$\sigma = \frac{e}{S} * \frac{I}{U} \quad (\text{éq.7})$$

La conductivité électrique est également une fonction linéaire de la température

$$\sigma(T) = a_1 * T + a_0 \quad (\text{éq.8})$$

Les paramètres a_1 et a_0 peuvent être déterminées par régression linéaire des valeurs expérimentales de σ en fonction de la température. Ils sont fonction du produit traité. Goullieux et Pain, (2005) ont proposé d'exprimer une conductivité de référence à l'aide d'un paramètre spécifique du produit traité m_{ref} à une température de référence T_{ref}

$$\sigma(T) = \sigma_{ref} * [1 + m_{ref} * (T - T_{ref})] \quad (\text{éq.9})$$

Une régression linéaire appliquée à l'équation 9 sur les données expérimentales permet d'obtenir m_{ref} connaissant σ_{ref} et T_{ref} .

L'évolution de la vitesse de montée en température peut être décrite à l'aide des équations suivantes dans le cas d'un dispositif batch adiabatique :

$$\frac{dT}{dt} = \frac{\alpha}{m_0} * \exp(\alpha * t) \quad (\text{éq.10})$$

$$\text{avec } \alpha = \frac{E^2 * \sigma_0 * m_0}{\rho * c_p} \quad (\text{éq.11})$$

$$T(t) = \frac{1}{m_0} * [\exp(\alpha * t) - 1] + T_0 \quad (\text{éq.12})$$

Où ρ est la masse volumique du produit (kg.m^{-3}) et c_p est la chaleur massique ($\text{J.kg}^{-1}.\text{°C}^{-1}$). Le dispositif que nous utilisons pour ces essais a démontré sa capacité à répondre aux équations 10, 11 et 12 car les pertes de chaleur dissipées par les parois de la cuve du réacteur batch sont négligeables (Roux *et al.*, 2010).

II.3.2.2. - Impact sur la qualité des jus de fruits

Le chauffage ohmique a été testé sur de nombreux produits en agroalimentaire. La principale contrainte à son utilisation est la conductivité électrique de l'aliment. Une conductivité minimale du produit est en effet exigée. Les jus de fruits ont une conductivité électrique suffisante pour prétendre à un traitement par chauffage ohmique et celle de l'eau de coco, en moyenne de $0,7 \text{ S.m}^{-1}$, autorise sa stabilisation par effet Joule.

Les jus de fruits ou fluides riches en sucres ne sont pas toujours les premiers aliments traités par chauffage ohmique puisque les procédés classiques sont depuis longtemps maîtrisés dans ce domaine. Les équipements industriels ont fait leur preuve. Ils sont largement diffusés et fabriqués, ce qui contribue à maintenir leur coût très avantageux par rapport à une installation de chauffage ohmique. Cependant, depuis quelques temps, les consommateurs sont de plus en plus exigeants sur la qualité des produits proposés par les industriels qui, en écho, reste à l'écoute de la demande du marché. La demande pour des jus de fruits riches en « nouveaux » éléments santé comme les antioxydants de type caroténoïdes, les polyphénols (ex : jus de grenade) ou l'intérêt pour des jus développant des arômes fins et subtils (jus de fruits de la passion, lychee), font prendre conscience des limites des procédés conventionnels. Les molécules à l'origine de ces atouts sont thermosensibles et nécessitent l'emploi de traitements plus doux. Le chauffage ohmique, dont les coûts d'investissements diminuent

grâce à son expansion progressive dans le monde, reste une technologie au potentiel non négligeable.

Quelques publications sur la stabilisation du jus d'orange (Vikram *et al.*, 2005 ; Leizerson et Shimoni, 2005a et 2005b), la dégradation du glucose dans des solutions de dialyse péritonéale (Shapira *et al.*, 2007), l'inactivation des polyphénoloxydases dans le jus de raisin (Icier *et al.*, 2008) montrent un regain d'intérêt pour le chauffage ohmique dans le domaine des fluides sucrés et aromatiques. Certes, les objectifs de ces travaux restent toujours de réduire la charge microbienne et d'inactiver les enzymes endogènes responsables des dégradations de la qualité. Mais en complément de ces prérequis indispensables, les auteurs cherchent également à comparer les effets du chauffage ohmique et des méthodes conventionnelles sur les concentrations en molécules d'intérêt.

Ainsi, Leizerson et Shimoni (2005a) ont démontré que la pasteurisation par chauffage ohmique d'un jus d'orange frais préserve mieux les cinq composés aromatiques les plus représentatifs de la flaveur du jus d'orange : limonène, pinène, myrcène, octanal et décanal qu'une pasteurisation conventionnelle. Dans une autre publication de 2005b, les mêmes auteurs ont étudié la conservation des jus traités avec les deux technologies et ont constaté une durée de conservation identique de 105 jours pour les critères microbiologiques. Étonnamment, le jus d'orange traité par chauffage ohmique a une durée de vie sensorielle supérieure à 100 jours, ce qui correspond à plus du double de celle du jus traité en pasteurisation conventionnelle.

A l'opposé des molécules à effets santé, la production de produits néoformés indésirables dans les aliments est également aujourd'hui au centre des préoccupations des consommateurs et des industriels. Ces molécules sont souvent issues de la réaction de Maillard qui met en jeu des réactions chimiques entre des acides aminés et des sucres. Sous l'effet de la chaleur, un grand nombre de nouveaux composés apparaissent dont certains, comme les AGE (Advanced Glycosylation End Products) (Cerami *et al.*, 1988) sont présumés dangereux pour la santé humaine. Les effets des techniques de stérilisation conventionnelle en autoclave et par chauffage ohmique sur des solutions de dialyse péritonéale (mélanges de glucose et sels minéraux proches de l'eau de coco) ont été étudiés par Shapira *et al.*, 2007. Ces derniers montrent qu'une stérilisation par chauffage ohmique conduit, pour une même valeur stérilisatrice, à deux fois moins des molécules néoformées dérivées du glucose qu'une stérilisation par autoclave.

II.3.3.- Les traitements membranaires

II.3.3.1. - Généralités et principe

Généralités

En 1748, l'abbé J. A. Nollet découvre le phénomène d'osmose et le publie dans *Leçons de physique expérimentale*, chez Hippolyte-Louis Guérin et Louis-François Delatour, Paris. En 1907, Bechold publie un travail où il décrit le passage de solution à travers une membrane préparée avec des filtres papiers imprégnés d'acide acétique sous la force de hautes pressions. Il propose pour la première fois le terme ultrafiltration.

Cinquante ans plus tard, les procédés membranaires font leur apparition dans le monde industriel au début des années 60 suite aux travaux de deux étudiants Srinivasa Sourirajan et Sydney Loeb dans un laboratoire de l'Université de Californie. Ces derniers venaient de réussir le dessalement de l'eau à l'aide d'une membrane synthétique en acétate de cellulose. En 1970, Cadotte et Lonsdale développe des membranes composites pour l'osmose inverse, plus tard perfectionnées par Cadotte en membranes multicouches en polyamide. Ces membranes sont aujourd'hui largement remplacées par des membranes en acétate de cellulose. A la même période, Forbes applique pour la première fois l'ultrafiltration au procédé de peinture par électrophorèse.

Depuis, les procédés de filtration membranaire se sont développés dans de nombreux domaines : chimie, pharmacie, médecine, environnement, agroalimentaire, défense, électronique... Une filtration conventionnelle permet de séparer des particules solides immiscibles de liquide ou gaz. Grâce à la filtration membranaire, il est possible de séparer des solutés dans des liquides ou de séparer des mélanges de gaz (Cheryan, 1998). La membrane joue le rôle de barrière et de tamis en laissant passer (ou pas) les molécules d'un mélange. Les membranes peuvent être classées selon leur forme (tubulaire, plane, spirale, fibres creuses, multicanaux) ou leur type de matériau (tableau 1).

Tableau 1. Types de membranes

Type de membranes	Matériaux
Synthétiques (ou organiques)	Acétate de cellulose, polyamides ou polysulfones, nylon, fluorure de polyvinylidène (PVDF), polytétrafluorure d'éthylène (PTFE), polypropylène (PP) polycarbonate, etc.
Céramiques (ou inorganiques ou minérales)	Oxyde de zirconium, oxyde de titane, argent, etc.
Composites	Composés, par exemple, d'une couche superficielle de polymères synthétiques sur une base d'acétate de cellulose, ou d'une couche de titane sur un support en acier inoxydable

Les membranes céramiques sont aujourd'hui très utilisées en agroalimentaire car elles présentent des avantages certains par rapport aux membranes organiques qui sont :

- une inertie vis-à-vis de la plupart des produits chimiques et solvants ;
- des limites de températures élevées (elles acceptent en routine les stérilisations) ;
- pas de limites de pH (0,5 à 13, parfois 0-14) ;
- des durées de vie très longues (jusqu'à 10-14 ans pour certaines applications) ;
- une possibilité de réaliser des décolmatages par inversion de flux suite à l'application de la pression non plus du côté rétentat mais du côté du perméat.

Elles ont cependant quelques limites :

- leur faible résistance aux chocs (mécaniques ou thermiques) ;
- leur sensibilité aux matériaux abrasifs ;
- la nécessité d'une bonne vitesse tangentielle et donc d'un bon système de pompage du fluide ;
- leur coût.

Principe

Pour qu'un fluide puisse traverser une membrane, il est nécessaire d'exercer une pression ou que les différences de concentrations des solutions de part et d'autre de la membrane soient suffisantes pour générer un transfert de matière (la force motrice est alors une pression osmotique). Les procédés de filtration membranaire sont des procédés de séparation physique qui utilisent la pression comme force motrice. Ils se divisent en quatre catégories : la microfiltration, l'ultrafiltration, la nanofiltration et l'osmose inverse (Figure 5).

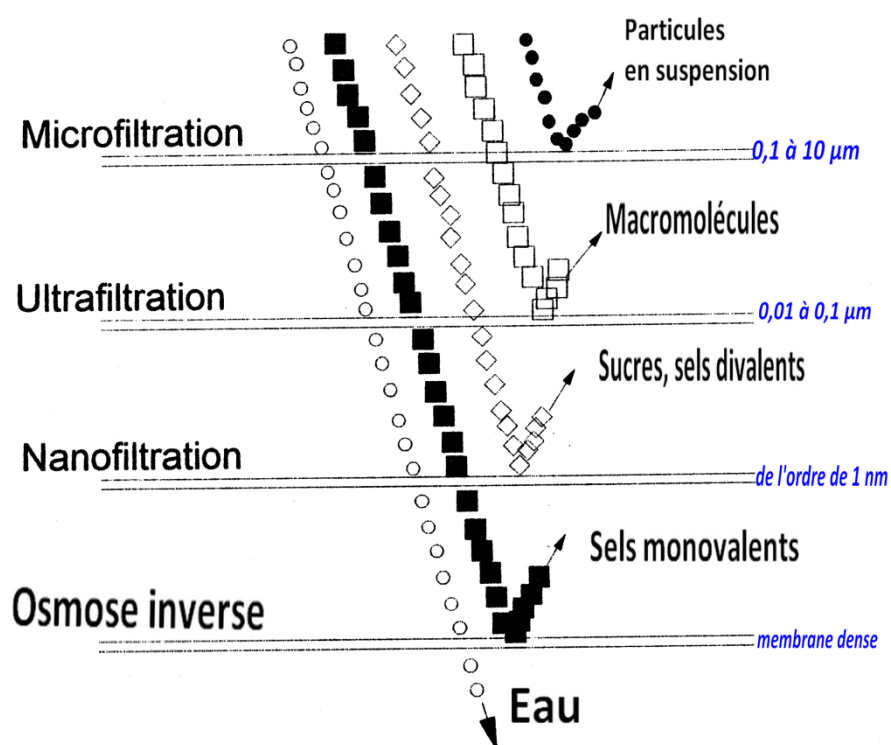


Figure 5. Différents types de traitements membranaires à gradient de pression
(d'après Cheryan, 1998)

La principale utilisation de la microfiltration est la clarification des eaux, des liquides alimentaires et biologiques. L'ultrafiltration permet de concentrer les solutions macromoléculaires en ne laissant passer que le solvant et les solutés de faible masse molaire. Elle s'applique à la séparation de particules de 0,005 à 0,1 µm. La migration des produits d'un côté à l'autre de la membrane est obtenue par une différence de pression (inférieure à 10 bar dans le cas de l'ultrafiltration). La filtration est généralement de type tangentielle, c'est à dire

que le fluide circule parallèlement à la membrane, contrairement à la filtration classique qui est dite frontale (Figure 6).

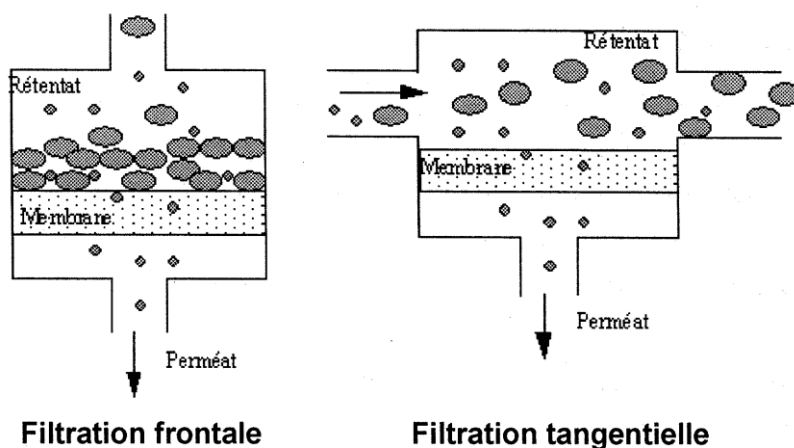


Figure 6. Modes de filtration frontale et tangentielle
(d'après un document de l'Ademe, 2006)

En ultrafiltration tangentielle, le mélange s'écoule parallèlement à la paroi poreuse de manière à limiter l'accumulation de soluté à la surface de cette paroi. L'accroissement de la concentration de soluté à l'interface membrane-liquide se traduit par une diminution significative du débit de filtrat. La fraction retenue par la membrane est le rétentat ; celle qui traverse la membrane est le perméat (Cheryan, 1998).

La plupart des spécialistes ne considère les membranes d'ultrafiltration que comme un tamis à molécules, triant celles-ci selon leur taille. Schématiquement, selon ce mécanisme « microporeux », les membranes sont donc traversées de pores de tailles définies dans lesquels l'eau et les petites molécules s'écoulent, alors que les molécules dont la masse molaire est supérieure à certaines valeurs, appelées seuil de coupure ou « cut-off » sont retenues (Bimbenet et Granier, 1977).

Les caractéristiques principales d'une membrane d'ultrafiltration sont la perméabilité et la sélectivité.

La perméabilité correspond à l'aptitude d'une membrane à se laisser traverser par un fluide et a pour expression :

$$P_e = \frac{J_p}{P_{tm}}$$

Avec P_e la perméabilité à l'eau à 20°C ($\text{L.h}^{-1}.\text{m}^{-2}.\text{bar}^{-1}$), J_p la densité de flux de perméat de l'eau à 20°C ($\text{L.h}^{-1}.\text{m}^{-2}$) et P_{tm} la pression transmembranaire (bar).

La pression transmembranaire P_{tm} correspond à la différence de pression entre les deux côtés de la membrane. En pratique, pour les opérations de microfiltration et d'ultrafiltration, on néglige souvent la pression osmotique des solutés retenus.

La densité de flux J_p se définit par la loi de Darcy :

$$J_p = \frac{P_{tm}}{R_p \mu}$$

où R_p est la résistance totale au flux de perméat (m^{-1}) et μ la viscosité du perméat (Pa.s).

Pour évaluer **la sélectivité**, on définit :

- **Le seuil de coupure** ou « cut off » de la membrane : il s'agit de la masse molaire correspondant à une rétention supérieure à 90% (les pores des membranes ont en effet une distribution en diamètre plus ou moins large). La taille des espèces peut aller de 10^3 à 10^6 daltons ce qui équivaut à des diamètres de particules allant de quelques dizaines à quelques centaines d'Å (Angström) ;
- **Le taux de rétention** qui correspond à la proportion de molécules retenues par la membrane par rapport à la concentration de ces molécules dans la solution d'alimentation et a pour expression :

$$R = 1 - \frac{C_p}{C_r}$$

avec C_p , concentration de la molécule dans le perméat et C_r , concentration de la molécule dans le rétentat.

Lors de l'ultrafiltration, la densité de flux diminue au cours du temps sous l'effet du colmatage de la membrane. Le colmatage peut être défini comme la conséquence des phénomènes résultant du passage de la matière à travers la membrane. Ces phénomènes (colmatage en profondeur par obstruction des pores, phénomènes d'adsorption ou dépôt de matière par convection) entraînent à la fois des variations de perméabilité et de sélectivité. En général, la densité de flux de perméat décroît et la membrane retient des molécules plus

petites. On distingue le colmatage externe en surface de membrane, du colmatage interne, situé dans la structure poreuse de la membrane. La réversibilité ou irréversibilité du colmatage se définit par référence aux moyens mis en œuvre pour l'obtenir : changement de conditions opératoires, décolmatage en flux inverse en cours de filtration, rinçage à l'eau pour éliminer le colmatage réversible, nettoyage physicochimique des membranes pour éliminer l'irréversible (Anonyme, ADEME, 2006).

Les avantages des techniques membranaires par rapport aux techniques conventionnelles sont :

- une opération à température ambiante ;
- une absence de changement de phase ;
- une absence d'auxiliaires de fabrication ;
- un fonctionnement en continu ;
- une modularité ;
- un faible encombrement des installations.

Les inconvénients sont :

- le colmatage des membranes qui peut perturber la production ;
- la sélectivité imparfaite ;
- la durée de vie parfois limitée si le procédé est mal contrôlé (chocs thermiques ou mécaniques sur les membranes, nettoyages peu performants).

II.3.3.2. - Impact sur la qualité des jus de fruits

L'ultrafiltration de jus de fruits est pratiquée depuis plus de 20 ans et son impact sur la qualité des perméats et rétentats obtenus est variable en fonction de la composition de la matière première, des prétraitements qu'elle a subis (comme l'enzymage) et des conditions opératoires (type de membrane, pression transmembranaire, température).

Un des avantages de ce traitement par rapport à la microfiltration est qu'il retient les macromolécules et notamment certaines protéines en fonction du seuil de coupure de la membrane sélectionnée. Il permet donc, en une seule opération, d'éliminer les microorganismes et les enzymes, responsables d'une dégradation de la couleur par exemple. Ainsi, Zarate-Rodriguez *et al.*, (2001) ont filtré du jus de pomme sur des membranes en polysulphone de seuils de coupure de 10 et 50 kDa afin de retenir les enzymes responsables du brunissement du jus. Les deux perméats obtenus ont des caractéristiques nutritionnelles équivalentes à celle du jus non filtré. Toutefois ils ont brunis et celui obtenu avec la membrane de seuil de coupure 50kDa beaucoup plus que celui obtenu avec la membrane de

10kDa. Ce changement de couleur des perméats n'a pas pu être expliqué. Les auteurs formulent comme hypothèse le passage éventuel de solutés colorés issus des réactions enzymatiques.

Tanada-Palmu *et al.* (1999) ont contourné le problème de l'action de la polyphénoloxydase dans le jus de banane par l'ajout d'une étape de prétraitement avant filtration. Il s'agit de faire tremper les morceaux de bananes dans une solution d'acide ascorbique et de métabisulfite de sodium avant ultrafiltration. L'étape de trempage protège le jus de banane de l'activité de la PPO pendant les 5 heures que durent les opérations d'enzymage et d'ultrafiltration. Le bénéfice du traitement physique « doux » qui préserve le naturel du produit est ici néanmoins diminué par la présence de métabisulfite de sodium dans le produit fini.

Si la microfiltration est répandue et utilisée pour des jus de fruits classiques (orange, pomme, raisin) dans un but de stabilisation microbiologique, l'ultrafiltration est souvent réservée à des jus moins courants (kiwi, grenade, hibiscus, banane). Ceci peut s'expliquer par le fait que l'opération est souvent jugée moins rentable que la microfiltration (il faut plus d'énergie pour travailler à pression transmembranaire plus élevée) alors que les densités de flux sont plus faibles. Les produits que l'on envisage de traiter par ultrafiltration doivent donc apporter une plus-value. L'ultrafiltration cherche à préserver ou concentrer des composés d'intérêt nutritionnel, ou, au contraire, permet d'extraire des enzymes ou autres molécules gênantes.

C'est le cas lorsque l'on souhaite concentrer les anthocyanes de l'oseille de Guinée (Cissé *et al.*, 2011b) ou les polyphénols de grenade (Cassano *et al.*, 2011). L'ultrafiltration d'extrait d'oseille de Guinée (ou roselle) sur des membranes de polyéthersulfone de seuil de coupure de 3 et 100 kDa a permis de retenir respectivement 97% et 24% des anthocyanes. Cassano *et al.* (2011) ont travaillé sur la préservation des propriétés anti-oxydantes du jus de grenade filtré. Ils ont constaté une clarification du perméat de jus de grenade qui garde cependant un extrait sec soluble et des concentrations en acides organiques (malique et citrique) équivalentes à celles du jus d'origine. Les taux de rétention des polyphénols et des anthocyanes sont faibles et respectivement de 16,5% et 11,7%. L'activité antioxydante du jus de grenade est ainsi préservée. Ces taux de rétention plus faibles que ceux rencontrés dans la littérature sont expliqués par la nature hydrophobe de la membrane utilisée.

Enfin, les composés que l'on souhaite le plus souvent retrouver dans un jus de fruit, au-delà des molécules dépositaires de ses propriétés nutritionnelles ou de ses effets santé sont les composés aromatiques. Ils jouent un rôle important dans l'acceptabilité du produit et un

jus de fruit dont le goût et l'arôme seraient trop éloignés du fruit d'origine serait délaissé par les consommateurs. Les effets de l'ultrafiltration sur les composés d'arômes ont été étudiés, entre autres, dans le jus d'orange (Johnson *et al.*, 1996), le jus de fruit de la passion (Yu *et al.*, 1986) et le jus de kiwi (Cassano *et al.*, 2006). Les composés retenus lors de l'ultrafiltration du jus d'orange sont les terpènes (d-limonène et valencène) et les aldéhydes apolaires (octanal et décanal) alors que les alcools et les esters se trouvent en majorité dans le perméat. A l'opposé, les travaux de Yu *et al.* (1986) sur le jus de fruit de la passion et ceux de Cassano *et al.* (2006) sur le jus de kiwi démontrent que les esters sont majoritairement retenus dans le rétentat avec des taux compris entre 80 et 90%. Il s'agit de l'hexanoate d'éthyle, du butyrate d'éthyle et de l'hexanoate d'hexyle pour le jus fruit de la passion ; du butanoate de méthyle, du butanoate d'éthyle, du benzoate d'éthyle et du benzoate de méthyle pour le jus de kiwi. Le perméat conserve, dans le cas du jus de kiwi, les composés polaires comme le 3-hexène-1-ol, le trans-2-hexène-1-ol et l'hexanol.

Ainsi, l'impact de l'ultrafiltration sur la qualité des jus de fruits est variable selon la matière première que l'on envisage de stabiliser et la membrane utilisée. Le procédé atteint bien les objectifs de stérilisation et peut être efficace pour la rétention d'enzymes indésirables. Le choix de la membrane et les conditions opératoires sont toutefois d'une importance capitale lors de la mise au point d'une opération d'ultrafiltration en vue de récupérer, concentrer ou extraire des molécules « atypiques ». Il ne semble pas y avoir de tendances claires concernant la répartition des composés volatils de part et d'autre de la membrane d'ultrafiltration. Leur passage ou leur rétention pourrait être liée à leur nature polaire ou apolaire. Mais leurs affinités avec des macromolécules telles que des pectines ou des molécules de nature hydrophobe présentes dans le jus originel pourraient également limiter leur passage à travers la membrane (Engel *et al.*, 2002). Face à des situations variées et contradictoires, seuls des essais préliminaires sur pilote de laboratoire avec le produit que l'on souhaite stabiliser et les membranes sélectionnées peuvent fournir une vision exacte du comportement des solutés que l'on cherche à isoler. Cette étape apparaît indispensable avant toute tentative d'industrialisation d'une opération d'ultrafiltration tangentielle de jus de fruits.

II.4. - Conclusion de l'étude bibliographique et problématique de la thèse

Après examen de la littérature scientifique, il apparaît que la composition de l'eau de coco est très variable selon les variétés de cocotier et les stades de maturité des fruits à la récolte et que notre connaissance du produit, notamment sa qualité aromatique, est encore incomplète.

Bien que ses propriétés n'aient pas fait l'objet d'études scientifiques nombreuses, l'eau de coco est fortement sollicitée sur le marché international des boissons « santé », en pleine expansion. La réponse à cette demande passe par le développement de procédés de stabilisation du produit après extraction de la noix, son « emballage naturel ». A ce jour, aucun des procédés étudiés dans la littérature ne semble donner entière satisfaction pour le traitement de l'eau de coco immature.

D'une part, les procédés thermiques conventionnels ne sont efficaces qu'en association avec des auxiliaires de fabrication et modifient la saveur du produit. D'autre part, les procédés de traitement membranaire permettent d'éviter l'ajout de ces auxiliaires et l'application de chaleur. Mais, leur impact sur la saveur du produit reste variable et dépend fortement des conditions opératoires.

Par ailleurs, à notre connaissance, aucune technique émergente comme les traitements haute pression, les champs électriques pulsés ou encore le chauffage ohmique, qui ont déjà démontré des avantages par rapport aux traitements conventionnels en terme de préservation de la qualité des jus de fruits, n'ont été testés sur l'eau de coco.

Répondre à notre problématique va donc nous conduire à travailler au croisement des deux grands domaines que compte la recherche en agroalimentaire : la science des aliments et le génie des procédés. La question à laquelle nous allons tenter de répondre est donc :

Peut-on (i) relier la variabilité de la qualité de l'eau de coco à la variété de cocotiers et au stade de maturité, et (ii) préserver cette qualité à l'aide de technologies douces ?

MATERIEL
ET METHODES

III - Matériel et méthodes

III.1. - Matériel végétal

Plusieurs lots d'eau de coco ont été utilisés au cours de ces travaux. Ce liquide est difficile à conserver, même à l'état congelé et le choix a été fait de travailler avec des lots frais ou congelés d'une durée de stockage inférieure à 3 mois.

Le lot EVM, utilisé pour l'étude sur les variétés et stades de maturité, est constitué de cinq variétés de noix de coco de Côte d'Ivoire récoltées sur la collection de la station de recherche Marc Delorme du CNRA, Centre National de la Recherche Agronomique de Côte d'Ivoire (Figure 7). Les cinq cultivars sélectionnés pour l'étude sont :

- une variété de cocotier Grand : **GOA**, Grand Ouest Africain,
- une variété hybride dite améliorée : **PB121+**, croisement entre NJM et GOA,
- trois variétés naines :
 - **NJM**, Nain Jaune de Malaisie,
 - **NVE**, Nain Vert de Guinée Equatoriale,
 - **NVT**, Nain Vert de Thaïlande.



Figure 7. Collecte des noix de coco

Chaque variété a été récoltée à trois stades de maturité (7, 8 et 9 mois). Pour chaque stade, trois noix ont été récoltées. Les noix ont été transportées par avion 24 à 48 heures après leur récolte et stockées dans une enceinte climatique à +14°C jusqu'à leur ouverture.

L'étude sur la stabilité de l'eau de coco à température ambiante a été menée sur des noix de coco de la variété NVE, Nain Vert de Guinée Equatoriale (lot ES) en provenance de République de Côte d'Ivoire (RCI). Sur deux arbres, deux régimes aux stades de maturité 7 et 9 mois ont été récoltés. Les noix prélevées ont été importées en France par avion et stockées dans une enceinte climatique à +14°C pendant 8 jours.

Les lots de noix de coco utilisés pour les essais sur les pilotes de chauffage ohmique (lot CO) et la première partie des essais des traitements membranaires (lot TM1) ont été importés de Thaïlande par avion par la Société POMONA (Marseille), livrées au Cirad et stockées 24 à 48h à +14°C avant ouverture.

Enfin, le dernier lot utilisé pour les essais préliminaires de concentration en traitement membranaire (lot TM2) provenait d'une usine brésilienne de production d'eau de coco stérilisée. L'eau de coco fraîche, conditionnée en usine en sachets thermosoudés multicouches, a été congelée puis expédiée par avion, réceptionnée et stockée à -20°C quelques jours avant les essais.

III.2. - Analyses de l'eau de coco

III.2.1. - Préparation des échantillons

Prélèvement de l'eau de coco

Les ouvertures des noix de coco immatures se font dans une salle blanche dont la température est réglée à $15 \pm 2^\circ\text{C}$. Les noix sont lavées à l'eau potable et laissées à sécher à l'air libre sur une surface propre. Les noix sont pesées individuellement. La partie de la noix à percer est désinfectée par passage à l'éthanol. Deux trous sont percés avec une perceuse dont la mèche a été préalablement flambée à l'éthanol.

Deux protocoles sont employés pour les prélèvements :

Protocole n°1

A travers une de ces perforations, une seringue stérile de 60 mL est introduite et sert à aspirer l'eau de coco (Figure 8). L'eau est ensuite rapidement répartie dans les différents flacons et pots à échantillonner avant d'être soit analysée immédiatement, soit congelée pour analyse ultérieure.



Figure 8. Prélèvement de l'eau de coco sur une noix immature

Protocole n°2

L'eau de coco est directement filtrée sur un tamis de mailles 0,5 mm et versée dans un récipient préalablement aseptisée avec une solution d'eau chlorée et rincé à l'eau claire. Après mesure du poids, de la température et de l'extrait sec soluble, l'eau de chaque noix est rassemblée dans un récipient commun. Lorsque toutes les noix de coco ont été ouvertes et chaque noix rapidement analysée, les eaux de coco mélangées sont rapidement réparties dans des bocaux en verre de 3 L. Des parties aliquotes sont réparties dans les différents flacons et pots à échantillonner pour les analyses sur eau de coco native. Tous les lots et échantillons sont immédiatement surgelés à -50°C puis conservées dans une chambre froide ou au congélateur à -20°C.

III.2.2. - Analyses courantes

Le tableau 2 présente les mesures et analyses effectuées sur l'eau de coco.

Tableau 2. Mesures et analyses effectuées sur l'eau de coco

Mesures/Analyses	Méthodes/Matériel	Marque/Fournisseur	Critère mesuré sur échantillon frais (F), après congélation (C) ou lyophilisation (L)
Masse de l'eau de coco (g)	Balance de précision 0,01g	Sartorius, Precisa	F
Température (°C)	Sonde de type K sur enregistreur de données	Sonde de type K connectée à une centrale ALMEMO® 2290-8 (Ahlborn, Holzkirchen, Allemagne)	F
pH	Sonde pH sur enregistreur de données ou pH-mètre de laboratoire	Electrode autoclavable à électrolyte solide connectée à une centrale ALMEMO® 2290-8 (Ahlborn, Holzkirchen, Allemagne) ou pH-mètre 300 (WTW GmbH, Allemagne)	F
Conductivité électrique (S.m ⁻¹)	Sonde de conductivité sur enregistreur de données	Sonde de type FYA641LF à compensation de température connectée à une centrale ALMEMO® 2290-8 (Ahlborn, Holzkirchen, Allemagne)	F
Oxygène dissous à 20°C (mg.L ⁻¹)	Sonde à oxygène dissous sur enregistreur de données	Sonde de type FYA640-O2 à principe de mesure Clark connectée à une centrale ALMEMO® 2290-8 (Ahlborn, Holzkirchen, Allemagne)	F
Turbidité (FTU)	Turbidimétrie	LP2000 (HANNA Instruments, France)	F
ESS (g.kg ⁻¹)	Réfractomètre portable	FG113 ou Atago (Japon) gradué de 0 à 32°Brix	F
Acidité titrable (mEq.L ⁻¹)	Volumétrie selon NF-V 05-101 ou titrimètre automatique	TitroLine easy (SCHOTT Instruments GmbH, Allemagne)	F
Activités polyphénoloxydase (PPO) et peroxydase (POD) (U.mL ⁻¹)	Spectrophotométrie	Spectrophotomètre UV-2450 de marque Shimadzu (Japon)	F ou C
Teneurs en sucres solubles et polyols (g.L ⁻¹)	Chromatographie ionique en phase liquide à détection par ampérométrie pulsée (HPLC-DAP)	DX600 (Dionex Corp., Sunnyvale, CA) équipé d'une colonne MA1 et d'un détecteur ED50	C
Composés volatils / Profil aromatique	Chromatographie en phase gazeuse couplée à de la spectrophotométrie de masse après micro-extraction en phase solide : HS-SPME couplée à GC/FID ou GC/MS	HP 5890 (Hewlett Packard, Palo Alto, CA, USA) et HP-6890A couplé à un modèle HP-5973N (Hewlett Packard, Palo Alto, USA)	C
Profil spectral proche infrarouge	Spectrophotomètre proche infrarouge portable	Labspec® Pro (ASD, Colorado, USA)	F
Analyses microbiologiques : flore totale, levures, moisissures (UFC.g ⁻¹)	Selon normes AFNOR NFV08-059 (sous-traitance)		F
Composition en sels minéraux (mg.L ⁻¹ ou µg.L ⁻¹)	Spectrométrie d'émission à plasma d'argon (sous-traitance)	Varian Inc., Palo Alto, CA, USA	L

La turbidité est mesurée à l'aide d'un appareil LP2000 (HANNA Instruments, France). La prise d'essai est de 10 mL. L'unité de turbidité est le FTU, Unité Turbidimétrique de Formazine.

L'acidité titrable est dosée sur 10 mL d'eau de coco par titrimétrie selon la norme NF-V05-101 à l'aide d'une solution de NaOH 0,1M en présence de phénolphthaléine. Elle est exprimée en milliéquivalents par litre. Elle a pu également être mesurée à l'aide d'un titrimètre automatique TitroLine easy (SCHOTT Instruments GmbH, Allemagne).

III.2.3. - Analyses enzymologiques

III.2.3.1. - Mesure de l'activité de la polyphénoloxydase

La mesure de l'activité des polyphénoloxydases (PPO) a été réalisée selon la méthode mise au point par Ponting et Joslyn (1948) et adaptée à l'eau de coco par Campos *et al.* (1996). La méthode utilise le catéchol comme substrat phénolique. Dans une cuve pour spectrophotomètre en plastique jetable de trajet optique 10 mm, on place 2,15 mL de solution tampon phosphate 0,05 M (pH 6,5) avec 250 μ L de catéchol 0,2 M. Le mélange est ensuite placé au bain-marie à 25°C pendant 10 min. On ajoute alors 100 à 400 μ L d'eau de coco dans la cuve (selon les échantillons) qui est agitée avant lecture de l'absorbance à 425 nm sur un spectrophotomètre UV-2450 de marque Shimadzu (Japon). L'absorbance est enregistrée toutes les 30 secondes pendant 10 min. La référence est réalisée sur un blanc en remplaçant l'eau de coco par de l'eau distillée. L'unité d'activité enzymatique U est définie comme étant la quantité d'enzyme qui provoque une variation d'absorbance de 0,001 par min. Les résultats sont exprimés en U.mL⁻¹.

III.2.3.2. - Mesure de l'activité de la peroxydase

La mesure de l'activité de la peroxydase (POD) a été réalisée selon la même méthode de Campos *et al.* (1996) que nous avons adaptée à notre matériel. La méthode utilise le gaïacol comme substrat phénolique et l'eau oxygénée (H₂O₂) comme catalyseur de la réaction. Dans une cuve pour spectrophotomètre en plastique jetable de trajet optique 10mm, on place 2,15 mL de solution tampon phosphate 0,2 M (pH 5,5) avec 100 à 400 μ L d'eau de coco. Le mélange est ensuite placé au bain-marie à 35°C pendant 10 min. On ajoute alors 600 μ L de gaïacol 0,04 M et 300 μ L d'eau oxygénée 0,03 M dans la cuve qui est agitée avant lecture de l'absorbance à 470 nm sur un spectrophotomètre UV-2450 de marque Shimadzu (Japon). L'absorbance est enregistrée toutes les 30 secondes pendant 10 min. La référence est

réalisée sur un blanc en remplaçant l'eau de coco par de l'eau distillée. L'unité d'activité enzymatique U est définie comme étant la quantité d'enzyme qui provoque une variation d'absorbance de 0,001 par min. Les résultats sont exprimés en U.mL⁻¹.

Pour les deux enzymes PPO et POD, une activité enzymatique résiduelle est définie comme étant :

$$\text{Activité enzymatique résiduelle} = \frac{A_t}{A_0}$$

avec A_t l'activité enzymatique de la PPO ou de la POD à l'instant t du traitement de l'eau de coco, A₀ l'activité initiale de la PPO ou de la POD dans l'eau de coco avant transformation.

III.2.4. - Analyse des sucres et polyols

Les dosages des sucres solubles sont effectués par chromatographie ionique liquide haute performance (aussi appelée «HPAE» High Performance Anion Exchange Chromatography ou encore «HPIC» High Performance Ionic Chromatography) sur un appareil DX600 (Dionex Corp., Sunnyvale, CA) équipé d'un détecteur à ampérométrie pulsée (DAP) de marque Dionex ED50. Les échantillons d'eau de coco sont dilués au 1/100^{ème} dans de l'eau déionisée (ou eau ultrapure) dont la résistivité maximum est de 18,2 MΩ.cm (à 25°C). Ils sont ensuite filtrés à 0,45 µm sur filtre Millipore en nylon avant d'être injectés sur une colonne Dionex modèle Carbopac MA-1 (4 x 250mm) composée d'une résine macroporeuse de chlorure vinylbenzylique/divinylbenzène greffée par un groupement fonctionnel alkyle ammonium quaternaire (15% de réticulation). Les différents sucres et polyols sont élués grâce à un gradient composé de soude NaOH 0,8 M et d'eau déionisée. Le gradient se décompose comme suit : NaOH 0,8 M pendant 10 min suivi de NaOH 0,6 M pendant 30 min et à nouveau NaOH 0,8 M pendant 10 min. Le débit d'éluant est constant et fixé à 0,4 mL.min⁻¹. Un standard externe est injecté dans chaque série d'échantillons. Ce standard est composé d'un mélange de différents sucres et polyols (tableau 3) préparés à partir de produits purs (Sigma-Aldrich® Corp., USA) et d'eau ultrapure.

Tableau 3. Composition du standard externe utilisé en HPLC-DAP

Composé	Concentration dans le standard (g.L ⁻¹)	Temps de rétention (min) Moyenne \pm écart-type	Coefficient de variation (%) pour n=3 analyses
Myoinositol	0,05	8,17 \pm 0,03	2,2
Glycérol	0,2	9,17 \pm 0,02	2,5
Sorbitol	15	13,98 \pm 0,04	0,4
Glucose	10	15,98 \pm 0,04	0,7
Galactose	3	17,55 \pm 0,04	
Fructose	12	18,72 \pm 0,06	0,5
Saccharose	13	25,42 \pm 0,15	1,6

Les courbes de calibration du standard montrent une réponse linéaire des différents sucres et polyols dans la plage de concentration de notre étude. Pour chaque série de données, le standard est injecté tous les 8 échantillons. Ceci nous permet d'évaluer un facteur ou coefficient de dérive et de corriger nos résultats bruts par ce coefficient avant de calculer les teneurs en sucres solubles et polyols de chaque échantillon. La teneur en sucres solubles totaux est calculée à partir de la somme des teneurs en sorbitol, glucose, fructose, galactose (lorsque ce sucre est présent) et de saccharose. L'analyse des chromatogrammes obtenus (Figure 9) est réalisée avec le logiciel Chromeleon version 6.11 (Dionex, USA). Chaque échantillon est analysé au minimum en double. Les teneurs en sucres solubles et polyols sont exprimées en gramme par litre. Les coefficients de variation et intervalles de confiance à 95% observés sur la répétabilité et la reproductibilité des analyses par HPIC des teneurs en sucres de l'eau de coco sont indiqués dans le tableau 4.

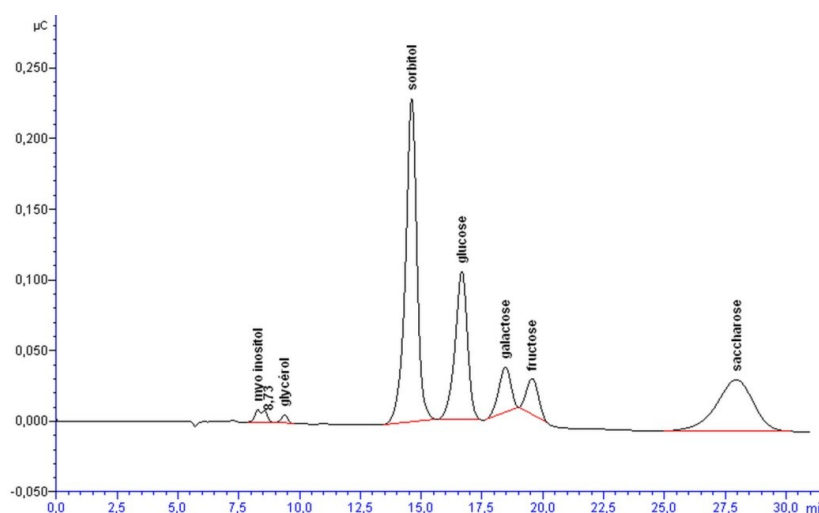
**Figure 9.** Chromatogramme des sucres solubles de l'eau de coco de la variété GOA, au stade de maturité de 9 mois

Tableau 4. Coefficients de variation et intervalles de confiance des analyses de sucres solubles de l'eau de coco par Chromatographie Ionique liquide Haute Performance en conditions de répétabilité (n=3) et de reproductibilité (jours et opérateurs différents)

Composé	Coefficient de variation répétabilité (%)	Coefficient de variation reproductibilité (%)	Intervalle de confiance à 95% répétabilité (g.L ⁻¹)	Intervalle de confiance à 95% reproductibilité (g.L ⁻¹)
Myoinositol	2,5	42	0,01	0,08
Glycérol	2,3	21	0,01	0,05
Sorbitol	2,7	7	0,01	0,02
Glucose	2,1	10	0,89	2,81
Galactose	8,7	nd	0,01	nd
Fructose	2,2	12	0,77	2,68
Saccharose	2,3	6	0,41	0,69
Sucres solubles totaux	2,1	10	2,09	6,22

A partir des concentrations en différents sucres et polyols dans l'eau de coco, un indice de saveur sucrée (Sweet Index, SI) a été calculé à l'aide de la formule suivante :

$$\text{SI} = 0.6 * \text{sorbitol} + 0.8 * \text{glucose} + 1.2 * \text{fructose} + 1 * \text{saccharose}$$

III.2.5. - Analyse des sels minéraux

La méthode d'analyse des sels minéraux : phosphore (P), potassium(K), calcium(Ca), magnésium (Mg) et sodium (Na) est la spectrométrie d'émission à plasma d'argon, plasma couplé par induction (ICP-AES). Cette analyse est effectuée sur un appareil de marque Varian Inc., Palo Alto, CA, USA selon la méthode officielle AOAC 985.01. Une minéralisation par voie sèche est effectuée (acide chlorhydrique et acide fluorhydrique) avec double incinération à 500°C avant la détermination ICP-AES multi-longueurs d'ondes. Une résolution de 5, 15, 6 et 50% est respectivement acceptée pour les ions K⁺, Ca²⁺, Mg²⁺, et Na⁺, en utilisant le protocole standardisé avec des étalons internes. La teneur en sels minéraux a été déterminée sur des échantillons d'eau de coco préalablement lyophilisés (volume d'eau de coco avant lyophilisation de 120 mL). Cette teneur par gramme de matière lyophilisée a été ramenée à une teneur par litre d'eau de coco. Les résultats sont donc exprimés en mg.L⁻¹ ou µg.L⁻¹.

III.2.6. - Analyses microbiologiques

Les prélèvements de 20 mL sont effectués à l'aide d'une seringue stérile, placées dans un pot à échantillonner de 40 mL stérile et conservés à +4°C. Le comptage de la flore totale, des levures et moisissures est effectué selon les normes françaises : dénombrement des colonies à 30°C par TEST 3MTM PETRIFILMTM 3M-01/1-09/89, norme NFV08-059.

III.2.7. - Analyse des composés volatils

Le profil aromatique est déterminé par micro-extraction en phase solide (SPME) suivie d'une analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à une détection à ionisation de flamme (GC/FID) ou spectrométrie de masse (GC/MS). La mise au point de cette analyse a fait l'objet d'une publication présentée dans la partie *Résultats et Discussion* de ce mémoire.

III.2.7.1. - Microextraction en phase solide (SPME)

La technique SPME (Solid Phase MicroExtraction) consiste en l'absorption/désorption des composés volatils de l'échantillon sur une fibre dont la composition est choisie en fonction des composés attendus. Les fibres utilisées pour notre analyse sont des fibres de type CarboxenTM/Polydimethylsiloxane (CAR/PDMS) (Supelco, Bellefonte, PA, USA). La fibre choisie est utilisée en mode « headspace » ou espace de tête. La fibre est mise en contact avec l'espace de tête de 5 mL d'eau de coco additionnée de 2 g de NaCl pur, le tout contenu dans un flacon de verre de 10 mL serti par un bouchon en aluminium équipé d'un septum en butyl/téflon. Le temps de mise en température du flacon et de son contenu, appelé temps d'équilibre, est de 10 min à 50°C et la durée d'extraction qui équivaut à la mise en contact de la fibre avec l'espace de tête pour que les composés s'y adsorbent, est de 60 min également à 50°C.

III.2.7.2. - Chromatographie en phase gazeuse avec détection par ionisation de flamme (GC/FID)

Les composés sont ensuite analysés par chromatographie en phase gazeuse modèle HP 5890 (Hewlett Packard, Palo Alto, CA, USA). La colonne utilisée en chromatographie en phase gazeuse est une colonne capillaire DBWAX de longueur 60 m, de 0,32 mm de diamètre interne et de 0,25 µm d'épaisseur (J&W, Scientific, Folsom, CA). Les composés sont désorbés

de la fibre pendant 4 min. La température d'injection est de 250°C. L'injection est manuelle. La température du four suit la programmation suivante : 40 à 150°C à 2°C.min⁻¹ puis 6°C.min⁻¹ jusqu'à 210°C suivi d'un palier isotherme à 210°C pendant 10 min. Le débit du gaz vecteur hélium est de 1,9 mL.min⁻¹. Une série d'alcane C₈-C₂₀ (Supelco Inc., Bellefonte, PA, USA) est injectée dans un échantillon d'eau de coco dans les mêmes conditions d'analyse que les échantillons. Les temps de rétention de ces alcanes permettent de calculer un indice de rétention non linéaire de type Kovats (Van den Dool et Kratz, 1963). L'identification des composés est faite par comparaison de leurs indices de rétention par rapport à ceux de la littérature. Un exemple de chromatogramme en phase gazeuse d'eau de coco est présenté en figure 10.

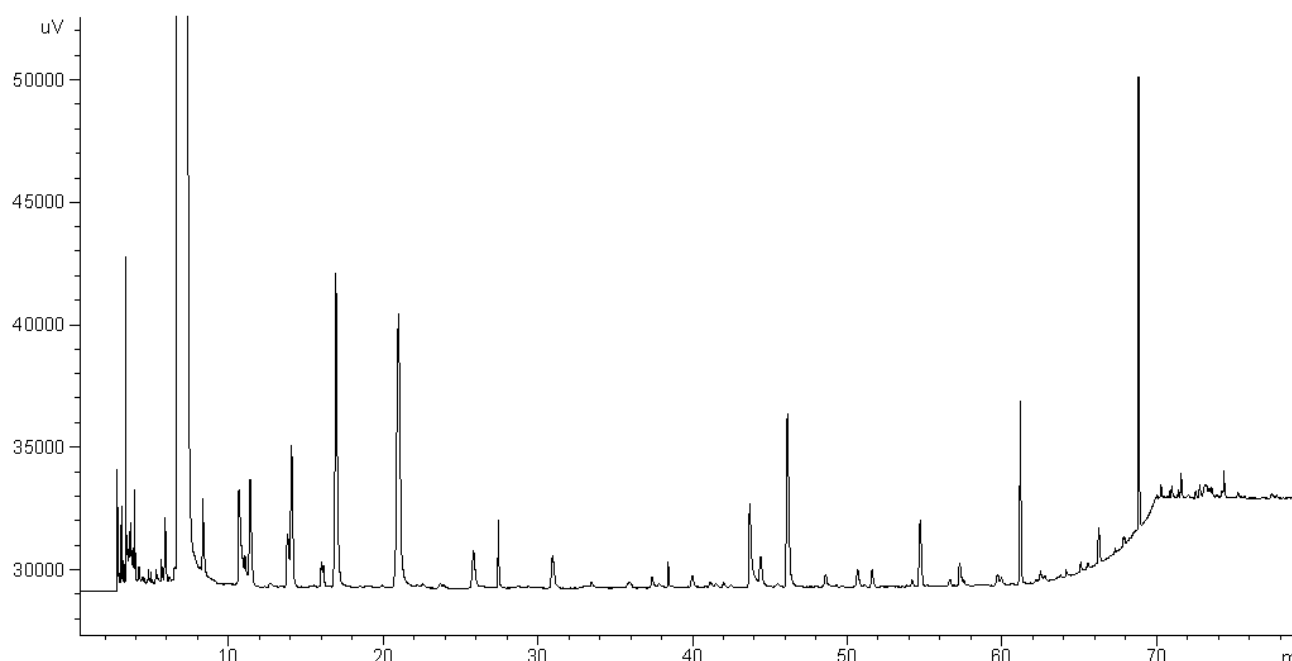


Figure 10. Chromatogramme des composés volatils d'eau de coco analysée par HS-SPME-GC/FID

III.2.7.3. - Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

Pour certains des essais, les composés sont également identifiés par chromatographie en phase gazeuse sur un appareil HP-6890A couplée à un spectromètre de masse modèle HP-5973N (Hewlett Packard, Palo Alto, USA). La colonne et le programme de température sont strictement identiques à ceux utilisés en GC/FID. L'injection se fait en mode splitless pendant 5 min à 250°C avec un insert spécifique SPME. Le gaz vecteur hélium a un débit de

1 mL.min⁻¹. La température de la source du spectromètre de masse était de 150°C. La source d'ionisation est en mode EI+ avec un courant de 70eV. L'étendue de la gamme de masse est de 40 à 250 uma. Un standard interne (50 µL de 2-heptanone à une concentration de 1 µg.L⁻¹) est ajouté à chacun des échantillons analysés. Les composés sont identifiés par comparaison de leur spectre de masse avec ceux des banques de données « Wiley Mass spectral data » et NIST 2002.

Chaque analyse est répétée deux fois. Après analyse des chromatogrammes et identification (lorsque cela est possible) des composés, les variables retenues sont les suivantes :

- L'aire totale de tous les pics = S_{tot} qui correspond à la somme des aires individuelles des composés ;
- L'aire individuelle de chaque composé S_i divisée par l'aire totale observée sur le chromatogramme = S_i/S_{tot} ;
- L'aire individuelle de chaque composé divisée par l'aire du standard interne appelée aire standardisée ou réduite = $S_i/S_{standard\ interne} = S_{is}$;
- Les composés sont également classés par familles chimiques : alcools, aldéhydes, acides, cétones, esters, lactones. Les composés non identifiés sont classés sous le libellé « autres ». Les aires individuelles des composés de chaque classe chimique sont additionnées et divisées par l'aire totale de tous les composés de façon à déterminer le pourcentage de chaque famille dans le profil aromatique de l'eau de coco. Dans ce cas, seuls les composés présentant des coefficients de variation inférieurs à 15% ont été pris en considération dans les calculs ;
- Lors du suivi de l'évolution du profil aromatique en fonction des traitements imposés à l'eau de coco, une distance aromatique est définie telle que proposée dans les travaux de Cissé *et al.*, (2011a) :

$$DA = \sqrt{\sum (S_{is0} - S_{ist})^2}$$

où DA est la distance aromatique, S_{is0} est l'aire standardisée du composé i au temps t_0 (avant traitement) et S_{ist} , l'aire standardisée du composé i à l'instant t.

III.2.8. - Analyses spectrales en proche infrarouge

Lors du suivi de la dégradation de l'eau de coco à température ambiante, le spectre infrarouge de l'eau de coco est enregistré immédiatement après prélèvement à l'aide d'un

spectrophotomètre portable LabSpec[®] Pro de marque Analytical Spectral Devices, Inc. (ASD, Colorado, USA). L'eau de coco, sans aucun prétraitement, est versée dans une cellule spectrophotométrique en quartz de 10 mm de trajet optique positionnée dans un module de support liquide connecté à l'appareil central par fibres optiques. La transmittance de la solution est enregistrée par un logiciel de saisie de spectres de marque Indico[™] Pro (ASD Inc., USA). Chaque spectre est la résultante de la moyenne de 32 mesures. Les longueurs d'ondes balayées vont de 350 à 2500 nm par pas de 1nm. La référence est prise sur l'air. Les spectres sont ensuite exportés vers le logiciel The Unscrambler version 9.2 (CAMO Process AS, Norvège). Les longueurs d'onde supérieures à 1400 nm sont éliminées car les absorbances sont trop bruitées entre 1400 et 1850 nm. Ils sont prétraités par un lissage de type Savitzky-Golay. Les analyses en composantes principales sont ensuite effectuées sur les dérivées secondes des spectres.

III.3. - Installations pilotes

III.3.1. - Montage pour l'étude de la dégradation de l'eau de coco à température ambiante tropicale

Il s'agit à travers cet essai de suivre l'évolution des paramètres physicochimiques de l'eau de coco lors de sa conservation, sans précaution particulière, à température ambiante (30°C). Le montage (Figure 11) consiste à placer l'eau de coco, fraîchement extraite de la noix, dans un récipient en verre de volume utile 2 L équipé d'une double enveloppe à circulation d'eau. L'eau de circulation est maintenue à $30^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ grâce à un bain-marie équipé d'un thermoplongeur qui a assuré la régulation de la température et la circulation de l'eau dans la double enveloppe pendant toute la durée de l'essai. L'enceinte n'est pas fermée de façon hermétique, l'eau de coco est donc laissée au contact de l'air ambiant, tel que cela est pratiqué dans les unités de transformation des pays du Sud. Les sondes de température, de pH, de conductivité électrique et d'oxygène dissous ont été connectées à une centrale d'acquisition des données de modèle Almemo 2290-8[®] (Ahlborn, Allemagne).

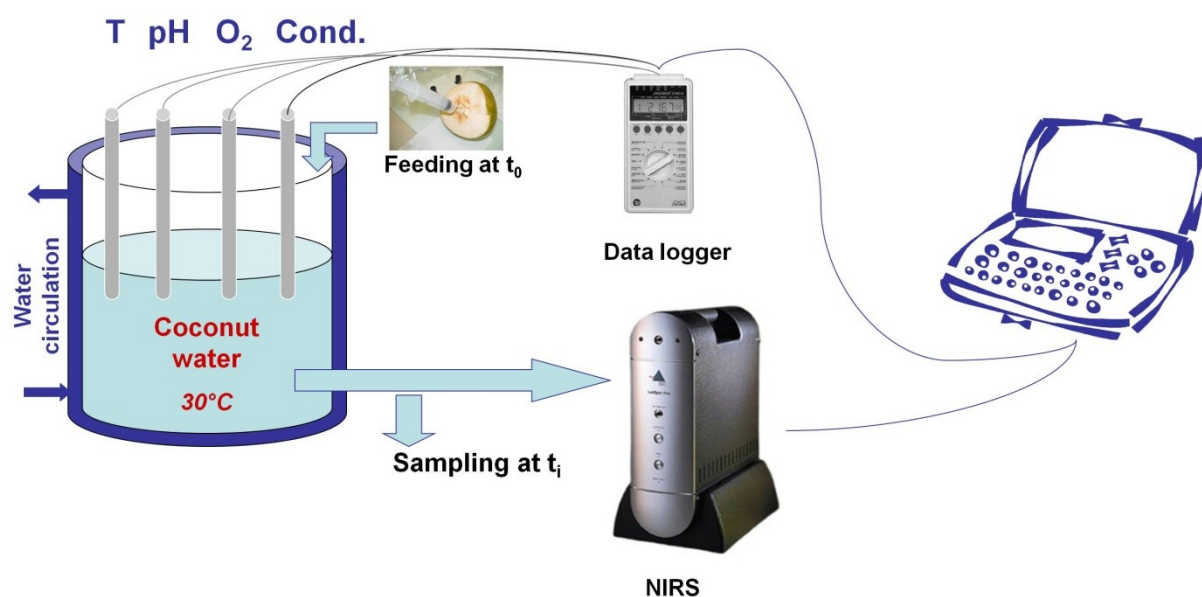


Figure 11. Dispositif simplifié de suivi de dégradation de l'eau de coco à température contrôlée en mode aérobie

Suivi des paramètres physico-chimiques « en temps réel » (cf. tableau 2 p.104)

Suivi des paramètres après prélèvements

Toutes les heures, une aliquote est prélevée à l'aide d'une seringue stérile. L'aliquote est divisée en plusieurs échantillons :

- 4 mL pour l'analyse des activités PPO/POD (stocké en tube Eppendorf ambré à -20°C avant analyse réalisée dans les 24h qui suivent le prélèvement) ;
- 4 mL pour la mesure des teneurs en sucres et polyols par HPIC (stocké en tube Eppendorf ambré à -20°C pour analyse ultérieure) ;
- A t_0 uniquement, 5 mL pour l'analyse du profil aromatique en SPME-GC/FID.

Deux séries d'essais du suivi de la dégradation de l'eau de coco à température ambiante tropicale ont été réalisées avec des matières premières différentes sur ce dispositif. La première série a concerné des noix de coco en provenance de Côte d'Ivoire de variété NVE, Nain Vert de Guinée équatoriale, à deux stades de maturité : 7 et 9 mois (lot ES). Elle avait pour objectif de réaliser des tests préliminaires et de tester la performance d'un suivi « on line » des évolutions du produit par spectrométrie proche infrarouge. La deuxième série d'essais a concerné les cinq variétés du lot EVM. Son but était d'observer l'impact des variétés et du stade de récolte sur la conservation de l'eau de coco en conditions réelles

simulées. Les caractéristiques initiales (à t_0) des noix et de l'eau de coco des lots ES et EVM sont présentées annexe 1.

III.3.2. - Réacteur à chauffage ohmique en mode batch

III.2.1. - Descriptif

Le réacteur à chauffage ohmique utilisé pour nos essais (Figure 12 et photos en annexe 2) a déjà été décrit par Roux *et al.*, 2010. La description qui suit est inspirée de ce travail.

L'installation de chauffage ohmique comporte une cuve de traitement en polyétherimide (PEI), thermoplastique amorphe renforcé par de la fibre de verre. Ce matériau est résistant à la température et à la pression. C'est également un bon isolant électrique. La cellule possède un diamètre interne de 3,55 cm, externe de 4,15 cm et une longueur est de 10,1 cm. Son volume est de 100 mL. Les électrodes sont placées à chaque extrémité de la cellule. Elles sont en titane et revêtues d'un revêtement DSA (anodes dimensionnellement stables) afin de limiter les phénomènes d'électrolyse lors d'un chauffage ohmique à 50 Hz (Berthou *et al.*, 1998 ; Berthou *et al.*, 1999).

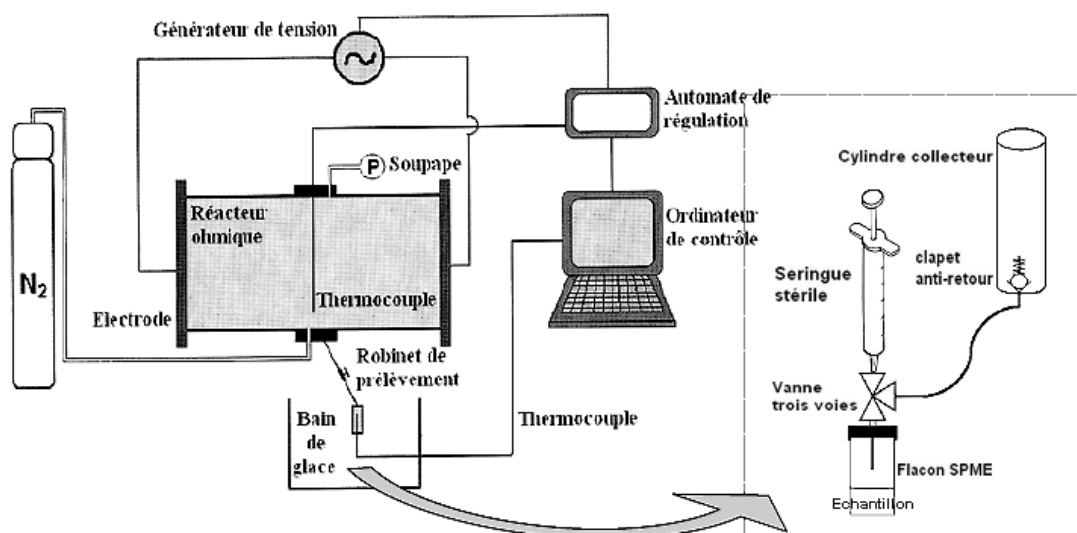


Figure 12. Réacteur à chauffage ohmique fonctionnant en mode batch et son système de collecte d'échantillons pour analyse en mode SPME

La pression dans la cuve est régulée par un flux d'azote entre 0 et 6 bar. Le bullage d'azote permet également d'homogénéiser la température du produit dans la cuve de traitement. Ce gaz est également inerte vis-à-vis de notre produit. Ainsi, les réactions

d'oxydation chimique ou autres réactions enzymatiques observées dans le produit traité ne sont pas perturbées par la présence du gaz.

Le générateur de tension (5 kW – 50 Hz) fournit l'énergie nécessaire au chauffage du produit. La tension et l'intensité du courant peuvent varier respectivement entre 0 et 320 V et 0 et 20 A en fonction de la résistance de charge, ce qui permet d'obtenir un champ électrique entre 0 et 3 kV.m⁻¹ et une densité de courant entre 0 et 20 kA.m⁻². La vitesse de chauffage dépend de la conductivité électrique du produit et peut-être ajustée en modifiant la tension appliquée aux électrodes.

La température dans la cellule est suivie par un thermocouple isolé de type K (NiCr/NiAl) de 1,5 mm de diamètre et de précision $\pm 1,5^{\circ}\text{C}$. Ce thermocouple est placé vers le fond de la cellule afin de rester immergé dans le produit même en fin d'essais lors du dernier prélèvement. Ce thermocouple est relié à un automate d'acquisition et de contrôle (SCADA – Simulator Control And Data Acquisition et LabView®). La température du réacteur mesurée à l'aide de cette sonde est dans une boucle de régulation et permet d'agir sur la tension appliquée aux électrodes. Cette régulation permet de maintenir la température constante pendant la phase de chambrage et la tension délivrée aux électrodes fournit la quantité d'énergie juste nécessaire à la compensation des pertes de chaleur à travers les parois du réacteur. L'automate de régulation assure l'acquisition des données de tension ($\pm 0,25\%$), d'intensité ($\pm 0,5\%$), des températures de cinq thermocouples. La vitesse de scrutation est réglable et prise pour nos essais à 5 acquisitions par seconde.

Les échantillons sont prélevés à l'aide d'un système de 5 collecteurs cylindriques en acier inoxydable équipé d'un robinet quart de tour. Chaque cylindre peut recevoir un échantillon de 15 mL. La partie supérieure du cylindre est fermée par un clapet anti-retour. Les collecteurs plongent dans un bain de glace. Lorsque l'on effectue un prélèvement, la pression à l'intérieur du réacteur pousse le produit vers le cylindre froid provoquant un refroidissement instantané de l'échantillon. Le volume dans la cellule du réacteur se réduit mais le flux d'azote compense automatiquement le vide laissé par l'échantillon prélevé. Cette régulation de pression instantanée permet de limiter au maximum la variation de température du produit entraînée par la chute de pression dans la cellule. L'un des cylindres collecteurs d'échantillon est muni d'une sonde de température reliée à l'automate enregistreur de données. Elle permet de suivre la chute de température de l'échantillon prélevé pendant la phase de refroidissement. Par rapport aux travaux de Roux *et al.*, 2010, le système de collecte a été légèrement modifié (Figure 12). Des clapets anti-retour ont été montés sur chaque cylindre collecteur. Ceci a permis de garder l'échantillon dans un environnement étanche et

limité en oxygène lors de son prélèvement. L'échantillon enfermé dans le cylindre collecteur est ensuite débranché du réacteur et relié à une vanne trois-voies sur laquelle est fixée une seringue stérile. Cette vanne, en position 1, permet d'aspirer l'échantillon dans la seringue. Une fois un volume suffisant d'échantillon atteint, la vanne, placée en position 2, permet d'injecter directement dans le flacon SPME la quantité exacte (5 mL) d'échantillons. Toute l'opération s'effectue à l'abri de l'air ambiant, ce qui limite les contaminations par des microorganismes et les réactions d'oxydation.

Performances

Les performances du réacteur ont été publiées par Roux S. *et al.*, 2010. Les conditions sont réunies pour que les variations des profils thermiques pendant les trois phases de montée en température, chambrage et refroidissement, soient minimales, c'est-à-dire respectivement de 2,3% pour le chauffage, 1% pour le chambrage et 20% pour le refroidissement. L'écart maximum en température dans la cellule de traitement est de 3°C pour un débit d'azote fixé à 50 mL.min⁻¹, ce qui correspond à une pression de travail dans le réacteur de 4,5 bars. La reproductibilité des réactions de dénaturation enzymatique observées dans l'eau de coco traitée par chauffage ohmique est satisfaisante. Le coefficient de variation observé sur des activités enzymatiques d'échantillons prélevés sur des profils de temps-température similaires est inférieur à 10%.

Protocole des essais

Un lot homogène d'eau de coco (lot CO) préparée la semaine précédant les essais et maintenues à -20°C est décongelée à +4°C la veille des essais. Les traitements thermiques appliqués à l'eau de coco sont de durées variables en fonction des températures de chambrage ciblées. Le protocole détaillé est présenté en partie *Résultats et discussions - chauffage ohmique* pp. 199 et 200 de ce mémoire. Les températures de chambrage choisies pour les essais varient de 100 à 140°C et les durées de chambrage de 0 à 600s. Les échantillons prélevés dans les cylindres collecteurs lors des essais sont réparties dans différents contenants en vue des analyses d'activités enzymatiques PPO et POD, de composés volatils, de teneurs en sucres solubles, d'acidité titrable et de composition en sels minéraux.

III.3.3. - Pilote de chauffage ohmique en mode continu

Le pilote utilisé dans cette étude a été développé par Emmeplane (Piacenza, Italie) en collaboration avec l'UM2 et l'UMR Qualisud. Il est constitué de plusieurs éléments (Figure 13 et photos en annexe 2) :

- Une cuve de lancement (BL) d'environ 15 litres, équipée d'une pompe d'un débit maximum de 10 litres par heure ;
- Une cuve de préchauffage (EC) remplie d'un liquide caloporteur, à base d'éthylène glycol chauffé par une résistance électrique thermostatée. Le produit à traiter circule dans un serpentin immergé dans le fluide caloporteur. Le produit est ainsi préchauffé, de manière indirecte par transfert de chaleur. Cette phase de préchauffage peut être nécessaire, afin d'éviter une trop grande différence de température avant l'entrée dans la cellule ohmique ;
- Une cellule de chauffage ohmique CO constituée de deux cellules en céramiques, d'une longueur de 4,2 cm et de 4,5 mm de diamètre. La cellule de chauffage comprend également deux électrodes espacées de 4,2 cm. A ce niveau le produit est chauffé directement par passage d'un courant électrique;
- Un chambreur de 30 cm de long en sortie de la cellule de chauffage ohmique ;
- Une cuve de refroidissement (R) où la température est abaissée afin de stopper les phénomènes de dégradations dus à la chaleur. Cette cuve est reliée à l'eau froide du réseau ;
- Une cuve de stockage (S) ;
- Un générateur de courant (G), amovible et couplé au boîtier de commande de la tension : tension variable de 0 à 270 V ; fréquence sur les électrodes de 25 kHz; ce boîtier permet de régler le voltage et donc de contrôler la température du produit en sortie de la cellule de chauffage ohmique ;
- Un boîtier de commande électrique A qui permet de régler le débit de la pompe d'alimentation, de programmer la température de préchauffage, de relever la température en entrée et sortie de cellule de chauffage ohmique ainsi que la température dans la cuve de refroidissement.

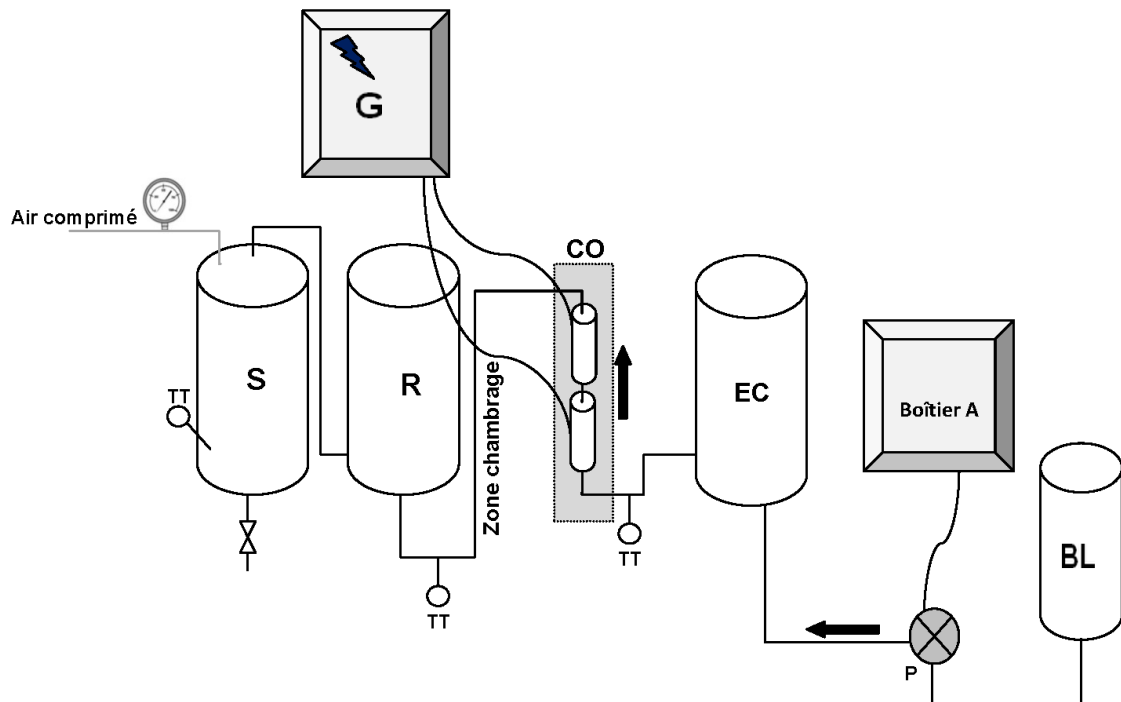


Figure 13. Schéma de principe du pilote de chauffage ohmique en continu

- **BL** : Bac de lancement
- **Boîtier A** : Automate de commande du pilote (pompe, thermocouples)
- **P** : Pompe de type monovis
- **EC** : Préchauffage
- **CO** : Section de chauffage ohmique à deux étages avec électrodes annulaires montées en série
- **R** : Refroidissement
- **S** : Bac de stockage du produit traité
- **G** : Générateur électrique et tableau de contrôle de la tension et de l'intensité

Protocole des essais

Avant de traiter tout produit, le pilote est démarré avec une solution saline ayant une conductivité électrique proche du produit à traiter. Ceci nous permet d'avoir une approximation du réglage du générateur de tension afin d'approcher le voltage, l'intensité nécessaire à l'obtention des températures auxquelles nous voulons traiter notre produit et d'économiser le volume de produit traité.

La cellule de chauffage ohmique CO est constituée de deux étages montés en série. Le produit va y séjourner 1,8 s pour un débit de 10 L.h⁻¹ et un diamètre interne de cellule de 4,5 mm. La montée en température jusqu'à 120-140°C est extrêmement rapide. Pour pouvoir

monter à de telles températures, le pilote dispose d'un circuit d'air comprimé et est conçu pour résister à des pressions élevées. La pression de travail est de 6 bar. Le temps de chambrage dépend de la longueur du tube en sortie de cellule de chauffage ohmique. Actuellement, le pilote permet d'obtenir un temps de chambrage minimum de 6,5 s pour un débit de 10 L.h⁻¹. Le réglage du débit se fait à l'aide du variateur de fréquence du moteur de la pompe, à partir du boîtier A. Diminuer le débit permet d'augmenter le temps de chambrage.

Lorsque le réglage de la tension, de l'intensité et du débit de l'eau salée est stable, on pousse l'eau salée à l'aide d'un lot de 12 L d'eau de coco. Des échantillons sont prélevés en sortie de pilote dans la cuve de stockage, juste après traitement thermique et refroidissement. Les essais ont été réalisés à 120, 130, 138 et 140°C avec un temps de chambrage de 10s. Après chaque essai, le pilote subit un cycle de nettoyage basique/acide avec une solution de NaOH à 2%, du vinaigre blanc, et de l'eau déionisée.

III.3.4. - Pilote d'ultrafiltration

III.3.4.1. - Descriptif

Le pilote de microfiltration tangentielle a été fabriqué par la société Technique Industrielle Appliquée (TIA, Bollène, France). Le pilote TIA (Figure 14) permet de réaliser des essais en microfiltration (MF) ou en ultrafiltration (UF) selon les membranes utilisées. Ses caractéristiques globales sont les suivantes :

- Dimensions : 1,18 x 0,75 x 0,30 m
- Energie : électrique 230 V, 50 Hz, puissance installée 0,55 kW
- Volume réactionnel minimum nécessaire au fonctionnement du pilote : 2 L
- Surface filtrante utile : 0,005 m² x 4 membranes
- Conduite manuelle

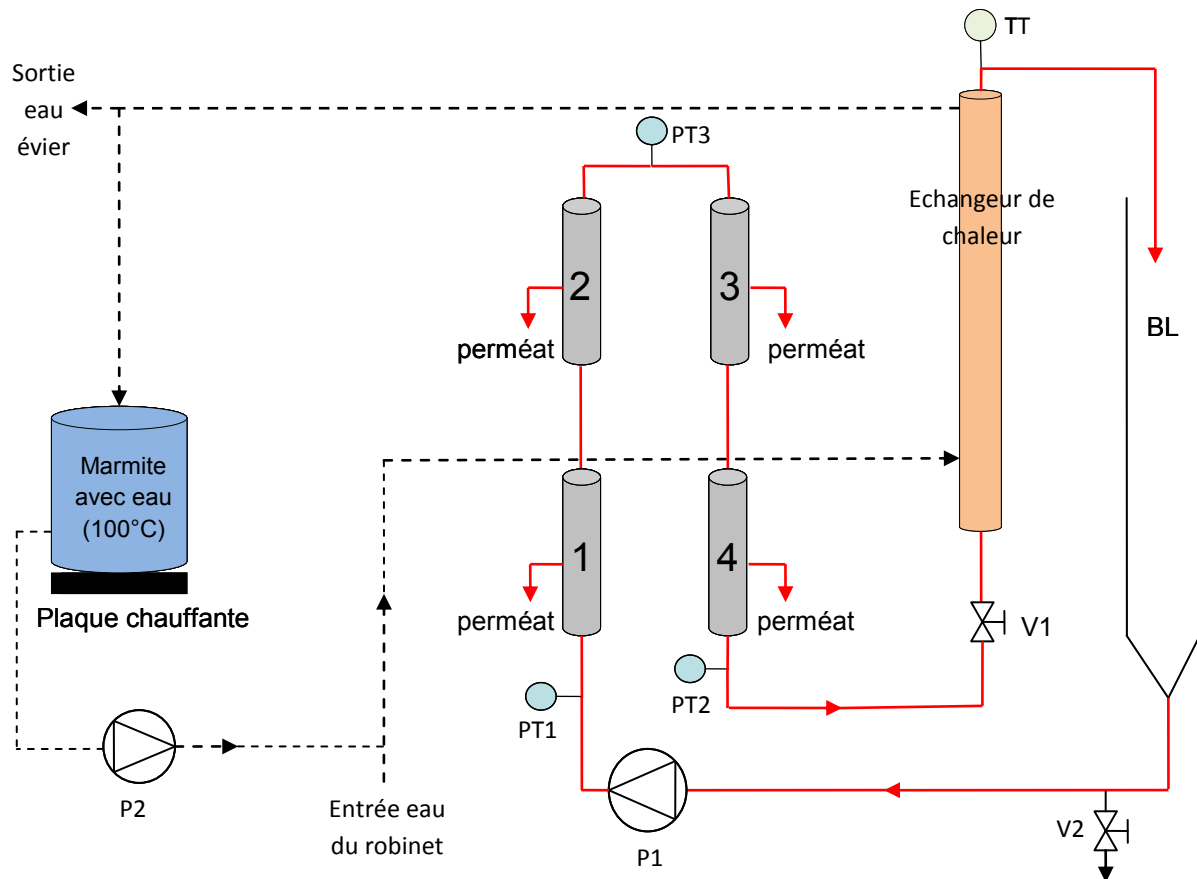


Figure 14. Pilote utilisé en mode ultrafiltration

- BL : Bac d'alimentation
- V2 : Vanne de vidange du pilote
- P1 : Pompe de circulation du produit
- PT1 : Capteur de pression d'entrée
- 1, 2, 3, 4 : Modules membranaires
- PT3 : Capteur de pression médiane
- PT2 : Capteur de pression de sortie
- V1 : Vanne de contre-pression
- TT : Capteur de température
- P2 : Pompe de circulation du fluide caloporteur

Le produit à traiter est introduit dans le bac d'alimentation. Une pompe Moineau IP55 moteur LEROY SOMER (Angoulême, France) assure la circulation du produit dans le pilote et maintient la vitesse tangentielle souhaitée (entre 2 et 6 m.s⁻¹). Le produit passe d'abord dans

les quatre modules contenant les membranes. Le rétentat passe ensuite dans un échangeur de chaleur qui permet de maintenir la température du produit constante pendant la durée de l'essai. Une pompe IWAKI Corp. (Japon) assure la circulation du fluide caloporteur. Après l'échangeur de chaleur, le rétentat retourne au bac d'alimentation et est réinjecté dans la boucle de filtration.

Le perméat est recueilli à la sortie inférieure de chaque module membranaire. Ainsi, il ne s'accumule pas dans le module et, au moment du prélèvement, sa composition correspond bien à celle du milieu réactionnel dans le pilote. La pression à l'intérieur des canaux filtrants est amenée à une valeur supérieure à la pression atmosphérique en réglant le degré d'ouverture de la vanne de sortie de rétentat. Les pressions d'entrée et de sortie des modules membranaires sont mesurées par trois capteurs de pression (manomètres de précision 0,1 bar). Le premier est positionné en entrée des modules juste après la pompe de circulation du produit à traiter, le deuxième en milieu de circuit, le troisième en sortie du circuit, juste après le dernier module. Une armoire électrique permet de commander la mise en marche ou l'arrêt du pilote.

Les membranes utilisées sont de type Membralox® T1-70, en céramique, fabriquées par Pall Corporation (USA). La membrane en céramique est un filtre fin poreux constitué d'aluminium, de titane ou zirconium agrégés à très haute température. Les membranes d'ultrafiltration utilisées pour nos essais ont des diamètres de pore respectifs de 10, 20, 50 et 100 nm. La couche filtrante de la membrane de 10 nm est constituée d'oxyde de titane. Celle des membranes de diamètres de pores 20, 50 et 100 nm est en oxyde de zirconium. Les membranes ont une longueur de 250 mm et un diamètre de 7 mm pour une surface filtrante de 0,005 m². Le conditionnement des membranes d'ultrafiltration passe par des cycles composés d'un lavage basique (NaOH 0,5 M à 80°C pendant 30 min), suivi d'un lavage acide (HNO₃ 0,16 M à 50°C pendant 30 min).

Les paramètres de contrôle du pilote sont :

- le type de membrane, chaque module pouvant être équipé d'une membrane différente ;
- la pression transmembranaire, P_{tm} ;
- la température.

Les paramètres de suivi des conditions opératoires sont :

- la densité de flux, J_p ;
- le facteur de réduction volumique, FRV calculé selon la formule

$$FRV = 1 + \frac{V_p}{V_a}$$

où V_p est le volume de perméat et V_a est le volume d'alimentation (volume de rétentat).

Dans les quatre modules, la pression transmembranaire diminue suivant la position de chaque membrane sur le pilote. La densité de flux J_p est mesurée par des prélèvements réguliers de perméat de chaque membrane pendant 1 minute précisément (tableau 5). Après conditionnement des membranes, des essais à l'eau adoucie à 20°C, à pression transmembranaire constante, permettent de déterminer la valeur initiale de perméabilité à l'eau de chacune des membranes (tableau 5). Ces valeurs (20, 192, 321 et 409 L.h⁻¹.m⁻².bar⁻¹ à 20°C) nous servent de valeurs de référence pour chaque essai. En effet, après chaque essai d'ultrafiltration d'eau de coco, les membranes subissent des cycles de lavage basiques et acides jusqu'à obtenir la valeur de perméabilité de référence. Ainsi, les conditions de départ de tous les essais sont identiques.

Tableau 5. Calcul des densités de flux, pressions transmembranaires et perméabilité à l'eau selon la position des membranes

Position de la membrane	1	2	3	4
J_p	$(V_1*60)/S$	$(V_2*60)/S$	$(V_3*60)/S$	$(V_4*60)/S$
P_{tm}	$P_{tm1} = (7P_e + P_s)/8$	$P_{tm2} = (5P_e + 3P_s)/8$	$P_{tm3} = (3P_e + 5P_s)/8$	$P_{tm4} = (P_e + 7P_s)/8$
Perméabilité à l'eau à 20°C	$(V_1*60)/(0,005*P_{tm1})$	$(V_2*60)/(0,005*P_{tm2})$	$(V_3*60)/(0,005*P_{tm3})$	$(V_4*60)/(0,005*P_{tm4})$

Avec :

J_p = densité de flux de perméat (L.h⁻¹.m⁻²)

$V_{(1,2,3 \text{ ou } 4)}$ = volume de perméat recueilli pendant 1 minute (L)

Perméabilité à l'eau à 20°C (L.h⁻¹.m⁻².bar⁻¹)

P_{tm} = pression transmembranaire (bar)

S = surface membranaire unitaire = 0,005 m²

P_e = pression d'entrée (bar), visible sur PT1

P_s = pression de sortie (bar), visible sur PT2

Les essais d'ultrafiltration d'eau de coco ont pour objectif de retenir les enzymes sans modifier le profil aromatique et les qualités nutritionnelles du produit. Un taux de rétention apparent a donc été calculé pour les enzymes et les différentes familles de composés volatils selon l'expression suivante :

$$\text{Taux de rétention} = \frac{(C_r - C_p)}{C_r} * 100$$

avec C_r , concentration de la molécule (ou activité enzymatique) dans le rétentat et C_p , concentration de la molécule (ou activité enzymatique) dans le perméat.

Protocole des essais pour la sélection de membranes

Afin de sélectionner une membrane adéquate pour l'ultrafiltration de l'eau de coco, quatre essais d'ultrafiltration d'eau de coco ont été réalisés sur le pilote TIA avec un montage «mixte» d'une membrane différente par module. L'eau de coco de noix importées de Thaïlande (lot TM1) stockée à -20°C a été décongelée à $+4^{\circ}\text{C}$ et filtrée sur un tamis de mailles 0,3 mm juste avant chaque essai. Ces derniers ont été effectués sur des membranes d'ultrafiltration de diamètres de pores respectivement 10, 20, 50 et 100 nm à une température constante de 30°C . Les pressions de travail sont de 4,2 bars pour la pression d'entrée et 2,9 bars pour la pression de sortie. Trois litres d'eau de coco sont versés dans le bac d'alimentation du pilote. Avant chaque essai, des échantillons sont prélevés sur l'eau de coco décongelée filtrée et dans le bac d'alimentation, après une courte mise en fonctionnement de la pompe, de façon à prendre en compte la dilution possible de l'eau de coco par l'eau adoucie résiduelle contenue dans le volume mort du pilote. Des mesures de densité de flux ont été réalisées toutes les 10 min sur une durée totale de 2 heures. Pendant ces deux heures, le volume des quatre perméats mesurés a été recyclé dans le bac d'alimentation du pilote de façon à rester à $\text{FRV} = 1$. A la fin de l'essai, des échantillons de perméats ont été collectés à la sortie des quatre modules membranaires. Un échantillon de rétentat a également été prélevé dans le bac d'alimentation. Les échantillons prélevés ont été stockés à -20°C avant d'être analysés.

Protocole des essais de concentration de l'eau de coco

Après la phase de sélection de la membrane d'ultrafiltration, nous avons réalisé deux essais exploratoires de concentration sur de l'eau de coco importée du Brésil (lot TM2), l'un à

30°C et l'autre à 19,5°C. Le pilote TIA a, cette fois-ci, été équipé de 4 membranes identiques dans chaque module. Tout comme dans les essais précédents, les membranes installées ont été conditionnées par des cycles de lavages basiques/acides afin de déterminer la perméabilité à l'eau à 20°C de référence de notre système. Les pressions de travail sont identiques aux précédentes soit 4,2 bars pour la pression d'entrée et 2,9 bars pour la pression de sortie. Le premier lot d'eau de coco est constitué de 12 litres pour le premier essai à 30°C. Le deuxième essai à 19,5°C a nécessité un lot de 13,5 litres d'eau de coco. Cette température a été maintenue grâce à un cryostat de modèle F34 (JULABO Labortechnik GmbH, Allemagne).

La préparation du pilote et de l'eau de coco sont identiques aux essais précédents. L'essai débute avec 3 L d'eau de coco. Toutes les 10 minutes, des mesures de volume des 4 perméats sont faites pour suivre l'évolution de la densité de flux du perméat. Le volume total des perméats collectés est remplacé par de l'eau de coco fraîche jusqu'à épuisement du volume d'eau coco du lot. Pendant le traitement de concentration (à FRV croissant), des échantillons de perméats ont été collectés lorsque le système atteignait les valeurs de FRV ciblées d'environ 1,5 ; 3 ; 4 ; 6,5 ; 10 et 15. Ces échantillons de perméat ainsi qu'un échantillon de rétentat en fin d'essai sont conservés à -20°C avant analyse.

III.4. - Modélisation de la cinétique de dégradation enzymatique

L'évolution de l'inactivation de la POD au cours du traitement de chauffage ohmique a été expliquée par un modèle de Weibull. Le modèle de Weibull est utilisé essentiellement dans le domaine de la mécanique et plus spécifiquement dans la modélisation/prédiction de l'usure des pièces mécaniques (Smith, 1991). Depuis quelques années, dans le cadre d'études de dégradation de molécules en mode non-isotherme, cette approche est apparue pertinente et bien plus robuste que les approches de cinétique réactionnelle plus « classiques » (van Boekel, 2002 ; Corradini et Peleg, 2004). Dans le cas d'une inactivation enzymatique, le modèle de Weibull peut s'écrire :

$$\frac{A}{A_0} = \exp(-\beta t^\alpha) \quad (\text{éq.1})$$

où A/A_0 est l'activité enzymatique résiduelle telle que précédemment définie, α est le facteur de forme (sans dimension) car il détermine la forme de la courbe d'inactivation et β ,

appelé le facteur d'échelle est considéré comme la constante de vitesse de dimension $\text{min}^{-\alpha}$. Il est à noter que lorsqu' α est égal à 1, on retrouve une équation d'ordre 1.

Dans les applications mécaniques de la loi de Weibull, il est indiqué que lorsque les valeurs de α changent en fonction des zones de température explorées, on peut considérer que l'on a à faire à des populations distinctes de pièces mécaniques ou électroniques correspondant à des « modes » de défaillance différents. Un exemple concernant ici un taux de panne démontre l'intérêt de l'utilisation de la loi de Weibull. Les taux de panne peuvent être ainsi divisés en trois classes :

- Un taux de panne décroissant relève d'une "mortalité infantile". Ainsi, les éléments défectueux tombent en panne rapidement, et le taux de panne diminue au cours du temps, quand les éléments fragiles sortent de la population ;
- Un taux de panne constant suggère que les pannes sont liées à une cause stationnaire ;
- Un taux de panne croissant suggère une "usure ou un problème de fiabilité" : les éléments ont de plus en plus de chances de tomber en panne quand le temps passe. Dans ce dernier cas, une subdivision apparaît pour des valeurs de α comprises entre 1,5 et 2,5 qui sont associées à des phénomènes de « fatigue » des éléments alors que des taux supérieurs sont associés à des phénomènes « d'usure ».

Par analogie, l'inactivation de la POD par chauffage ohmique, se situe dans la zone des « taux de panne croissants », autrement dit, plus le temps passe, plus la température augmente et plus les enzymes ont de chance d'être inactivées.

Pour revenir au modèle, la dépendance de β vis à vis de la température a souvent été décrite à l'aide d'une équation d'Arrhenius ou d'une équation de type exponentielle (van Boekel, 2002). Elle est mieux décrite par une équation du type log logistique lorsque les vitesses de réaction ont tendance à être « faibles » aux faibles températures et très rapides aux températures plus élevées :

$$\beta = \ln \{1 + \exp[k (T - T_c)]\} \quad (\text{éq.2})$$

où k ($^{\circ}\text{C}^{-1}$) est une constante et T_c ($^{\circ}\text{C}$), la température critique, est également constante.

La température critique T_c est définie comme la température à partir de laquelle le phénomène se déclenche. Lorsque T est inférieure à T_c , le phénomène n'a pas lieu ou se déroule à des vitesses tellement lentes qu'il n'est pas visible sur des laps de temps

raisonnables et β est nul. Lorsque T est supérieur à T_c , le phénomène (ici l'inactivation enzymatique) se déclenche et lorsque T devient très supérieur à T_c , on peut considérer que β varie de façon linéaire avec la température et il s'écrit

$$\beta = k (T - T_c) \quad (\text{éq.3})$$

Pour notre étude, nous nous sommes contentés de lisser nos données par un modèle de Weibull à l'aide d'une régression non linéaire utilisant un algorithme de Gauss-Newton avec le logiciel TableCurve2D® V2.03 (SPSS Inc., Chicago, USA). Les paramètres α et β ont été déterminés à chaque température entre 100 et 140°C après avoir ajusté les profils de température par un polynôme d'ordre 3 sur la phase de montée en température et une constante sur la phase isotherme. La phase de refroidissement permet de stopper très rapidement les réactions thermiques (Roux *et al.*, 2010) et n'est pas prise en considération car sa contribution à l'inactivation enzymatique est nulle. En parallèle, un modèle de type exponentiel a été testé sur la phase de montée en température puisqu'il correspond à l'équation de la vitesse de montée en température en chauffage par effet joule dans un dispositif adiabatique. Ce modèle fonctionne bien mais il a toutefois montré certaines faiblesses dans l'ajustement des températures en fin de phase de chauffe, juste avant l'installation de la phase isotherme. Cette plage de température ayant une importance cruciale car elle correspond à une zone clé de l'inactivation de la POD dans l'eau de coco, le choix a été fait de garder des polynômes d'ordre 3 pour simuler les phases de montée en température à 100, 110, 120, 130 et 140°C. La qualité des équations ainsi obtenues a été évaluée par le coefficient de détermination ajusté (R^2_{aj}) et le calcul de l'erreur-type ou Root Mean Square Error (RMSE).

$$RMSE = \sqrt{\frac{1}{(n - q)} \sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2}$$

Avec n nombre de points utilisés pour la régression, q le nombre de paramètres du modèle, y_i les valeurs des points expérimentaux et \hat{y}_i les valeurs du modèle.

III.5. - Outils statistiques

Les analyses statistiques descriptives, de comparaison de moyennes et l'analyse des plans d'expériences sont réalisées à l'aide du logiciel Statistica, version 7.1 (Statsoft Inc., USA). Les analyses multivariées sur les données spectrales et les analyses en composantes principales sont réalisées à l'aide du logiciel The Unscrambler, version 9.2 (CAMO PROCESS AS, Norvège).

RESULTATS ET DISCUSSION

L'ACP montre que les eaux de coco des cinq variétés de cocotier présentent des caractéristiques physicochimiques distinctes. Les deux premières composantes expliquent 69% de la variance observée, ce qui démontre que les critères choisis représentent bien les différences observées entre individus. L'axe 1, qui représente 48% de la variance observée, est corrélé positivement aux teneurs en fructose, glucose, sucres solubles et négativement aux teneurs en sorbitol, galactose et au pH. Il permet de discriminer la variété de cocotier Grand GOA des variétés de cocotiers naines (NJM, NVE, NVT). L'axe 2 représente 21% de la variance observée. Il est corrélé à la teneur en saccharose et au pourcentage d'eau dans la noix de coco. Il permet d'isoler le cocotier hybride PB121. Il est à noter que l'activité enzymatique des polyphénoloxydases et de la peroxydase ne contribuent pas à la variance observée au sein des variétés étudiées sur ces deux composantes principales.

Ainsi, les critères les plus pertinents permettant de distinguer les eaux de coco de ces cinq variétés juste après ouverture de la noix, seraient :

- les teneurs et composition en sucres solubles et polyols de l'eau de coco ;
- les poids de l'eau et le pourcentage d'eau par noix.

Nous allons donc observer les évolutions de ces critères au sein de nos variétés.

La première catégorie de variables liées à l'axe 1 de l'ACP est la composition de l'eau de coco en sucres solubles et polyols. Les cinq variétés d'eau de coco étudiées sont composées des mêmes sucres solubles et polyols : myo-inositol, glycérol, sorbitol, glucose, galactose, fructose et saccharose. Seule la variété GOA présente un pic supplémentaire non identifié (TR = 8,73 min) et co-élué avec le myo-inositol (Figure 16).

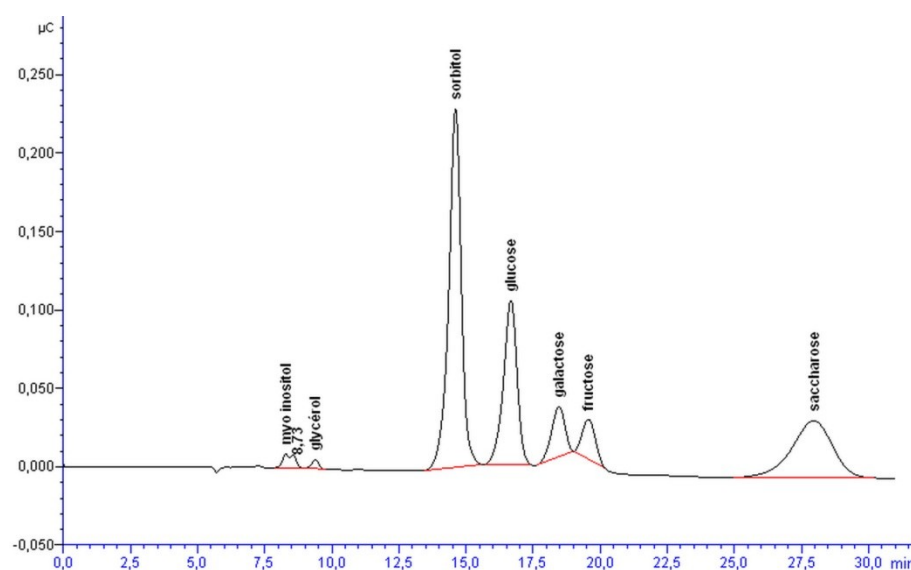


Figure 16. Chromatogramme des sucres solubles de l'eau de coco de la variété GOA récoltée au stade de maturité de 9 mois

Globalement, le profil des teneurs en glucose, fructose et saccharose des cinq variétés de cocotiers est assez proche (Figure 17). Les deux composés majoritaires sont le glucose et le fructose. Le saccharose est plus présent à partir des stades de récolte de 8 et 9 mois. Ces résultats sont similaires à ceux obtenus par Jackson *et al.*, 2004 ainsi que Kwiatkowski *et al.*, 2008.

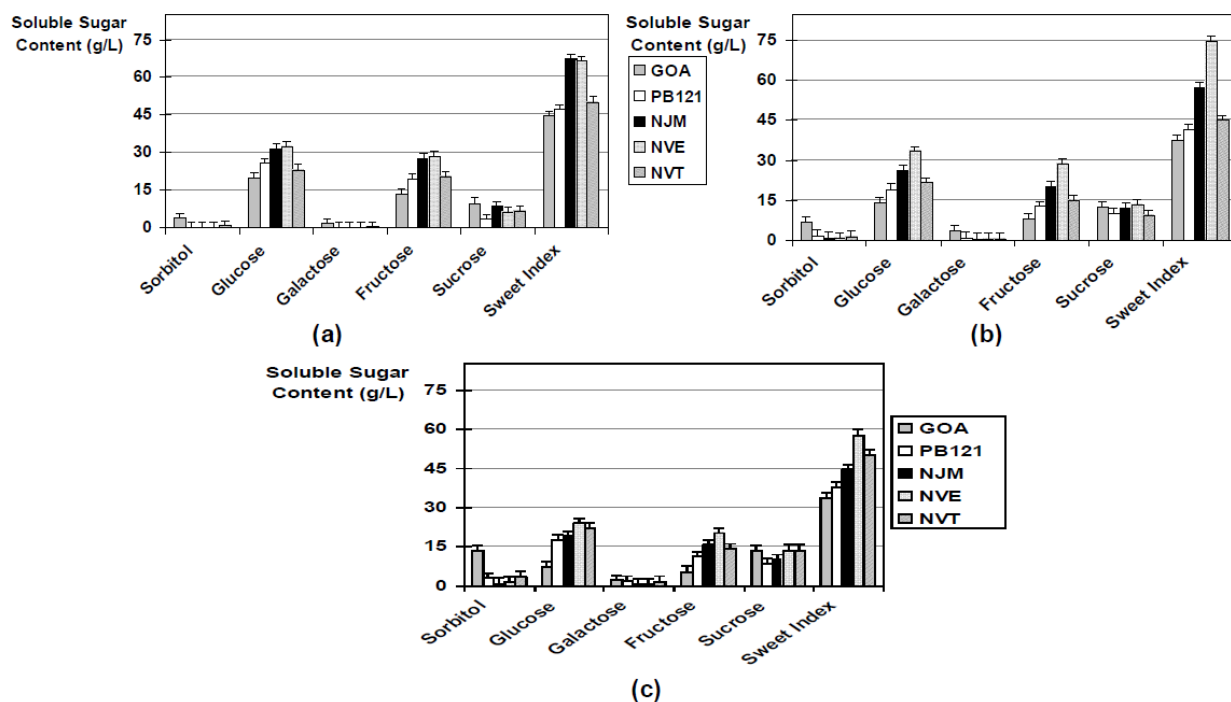


Figure 17. Teneur en polyols, sucres solubles et indice de saveur sucrée (SI, Sweet Index) d’eaux de coco de cinq variétés (GOA, PB121, NJM, NVE, NVT) récoltées à trois stades de maturité : 7 mois (a), 8 mois (b) et 9 mois (c)

La variété GOA se distingue par une teneur en sorbitol significativement plus élevée que les autres, quel que soit le stade de récolte. Sa teneur en galactose est également plus élevée que celle des autres variétés sans toutefois être significativement différente. Ces particularités de la variété GOA ont également été signalées par Assa *et al.*, 2007. Le sorbitol permet une réponse adaptative des plantes soumises à des stress salins, hydriques ou à de basses températures (Gutierrez et Gaudillère, 1996). Il serait ici un indicateur de résistance à

la sécheresse et à la salinité pour cette variété locale, très bien adaptée au littoral ivoirien au climat plutôt sec et aux sols sablonneux.

Les indices de saveur sucrée (SI) les plus élevés (75 et 65) se rencontrent chez l'eau de coco de la variété NVE récoltée à 8 mois et NJM récoltée à 7 mois. Les indices les plus faibles sont ceux du GOA. Quel que soit le stade de récolte, les variétés naines et la variété NVE en particulier, ont toujours des teneurs en glucose et fructose, et par conséquent des indices de saveur sucrée, plus élevés que le cocotier Grand ou la variété hybride.

La seconde catégorie de variables corrélées à l'axe 2 de l'ACP concerne les caractéristiques physiques du fruit : le poids de l'eau de coco et le pourcentage d'eau par noix entières. Les noix de coco font partie des fruits les plus gros de la planète et leur transport vers une unité de production a un coût (financier et énergétique) non négligeable. La figure 18 montre des variations non significatives du poids de l'eau en fonction des stades de récolte pour toutes les variétés sauf pour l'hybride PB121 dont le poids est maximal au stade de récolte de 7 mois. De manière générale, les variations du pourcentage d'eau dans la noix de coco ne présentent pas de tendances claires.

Le cocotier Grand GOA, quel que soit son stade de récolte, présente un poids d'eau de coco nettement inférieur aux variétés naines et hybride (0,124 kg en moyenne contre 0,218 kg pour les Nains et 0,316 kg pour l'hybride). Son pourcentage d'eau par noix reste également en dessous de 10%. Seule la variété NVE récoltée à huit mois présente (probablement accidentellement) un pourcentage d'eau aussi faible. Ce manque de « remplissage » des fruits de la variété NVE pourrait provenir d'un problème de dérèglement physiologique survenu lors de la formation du régime induit par un stress hydrique, un choc biotique, etc. (Coomans, 1975).

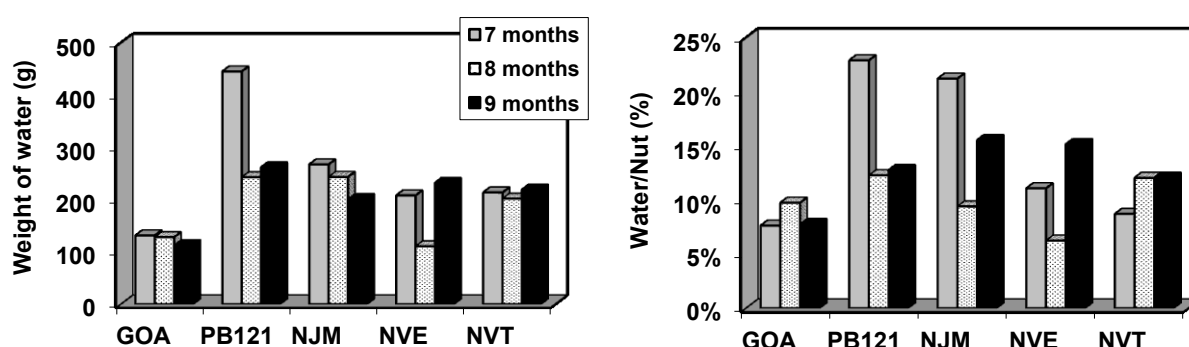


Figure 18. Poids de l'eau de coco et pourcentage du poids de l'eau de coco par rapport au poids de la noix de coco (non débourrées) en fonction des variétés de cocotiers et des stades de récolte

La variété hybride PB121 présente à la fois un poids d'eau de coco (0,444 kg) et un pourcentage d'eau par noix (23%) élevés, notamment au stade de récolte de 7 mois. De même, la variété NJM possède des pourcentages d'eau par noix assez élevés à un stade de récolte de 7 mois (21%). La variété NVT, la plus commercialisée dans le sud-est asiatique, présente, quant à elle, des pourcentages d'eau par noix moyens (11%) mais son poids d'eau reste tout à fait correct (0,211 kg en moyenne). De plus, ces noix sont commercialisées après débouillage partiel (une partie de la bourre est éliminée), ce qui augmente d'autant le pourcentage d'eau par noix et rentabilise mieux le transport. Il faut se rappeler en effet qu'un poids d'eau de coco faible combiné à un pourcentage d'eau par noix bas est rédhibitoire pour une commercialisation des noix immatures à l'export ou sur des marchés sous-régionaux. Les coûts d'approche pour une unité de transformation d'eau de coco seraient probablement beaucoup trop élevés si la matière première principale de l'usine était constituée par exemple de GOA ou d'une variété similaire.

En conclusion, les fruits du cocotier Grand GOA, avec un poids d'eau, un pourcentage d'eau par noix et un indice de saveur sucrée tous très faibles, quel que soit le stade de récolte, ne sont pas adaptés pour une consommation sous forme de boisson. La variété hybride PB121, bien qu'ayant un pourcentage d'eau par noix satisfaisant pour envisager un débouché « noix à boire », présente cependant un indice de saveur sucrée faible (47 dans le meilleur des cas). En revanche, les variétés de cocotiers Nains ont un poids d'eau de coco suffisant d'environ 0,218 kg et des indices de saveur sucrée tous supérieurs ou égaux à 45, quel que soit le stade de récolte. Dans les conditions de la Côte d'Ivoire, la variété la mieux adaptée à un usage de noix à boire semblerait être le Nain Jaune de Malaisie (NJM). Récolté à 7 mois, il combine en effet un poids d'eau satisfaisant (0,267 kg), un pourcentage d'eau par noix performant de 21% et un indice de saveur sucrée élevé de 65.

IV.1.2. - Variations des activités enzymatiques en fonction du stade de récolte et de la variété

Alors que le profil en sucres solubles et le poids de l'eau sont deux critères permettant de discriminer les cocotiers Nains du cocotier Grand GOA et de l'hybride PB121, les activités des polyphénoloxydases et des peroxydases (Figure 19) montrent des différences moins marquées entre les trois types de cultivars.

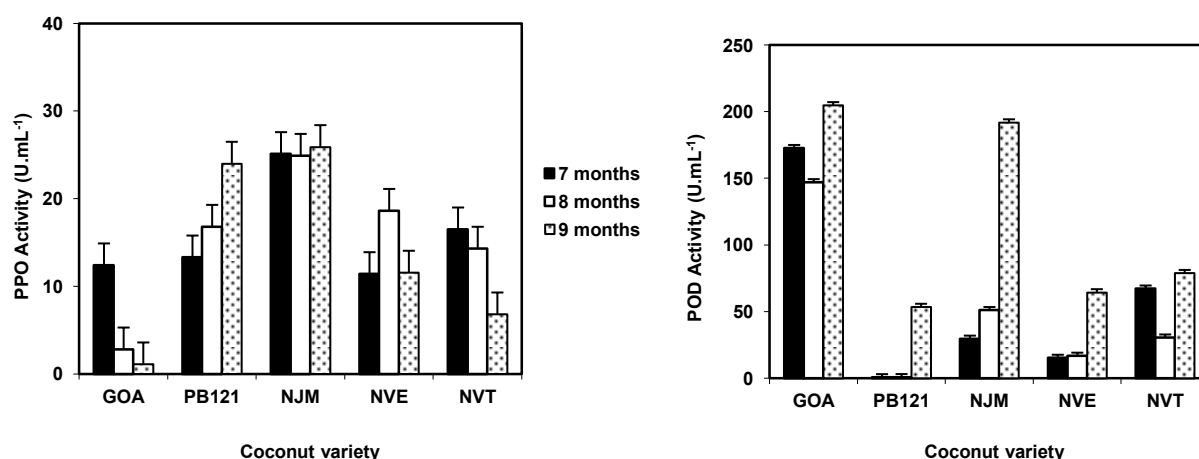


Figure19. Activité des polyphénoloxydases et de la peroxydase de l’eau de coco des cinq variétés de cocotiers GOA, PB121, NJM, NVE et NVT en fonction de leur stade de récolte : 7, 8 et 9 mois

En ce qui concerne les polyphénoloxydases, la variété GOA présente des niveaux d’activité décroissants en fonction du stade de récolte et globalement plus faibles que les quatre autres. A l’inverse, la variété PB121 montre des niveaux d’activité assez élevés et en progression (entre 13 et 24 U.mL⁻¹). L’activité PPO de la variété NJM ne varie pas en fonction du stade de récolte et est plus élevée que celle des deux autres variétés naines. Aucune tendance ne se dégage de ces résultats. Seule la faiblesse générale des niveaux d’activité PPO, par rapport aux niveaux d’activité POD, quelle que soit la variété et quel que soit le stade de récolte, est à souligner.

Concernant la peroxydase, la variété GOA présente des niveaux d’activité POD en moyenne bien plus élevés que ceux des autres variétés observées. L’eau de coco de l’hybride PB121 n’a quasiment aucune activité POD aux stades de récolte de 7 et 8 mois. Seule l’eau de coco de la variété NJM présente, au stade de récolte de 9 mois, un niveau d’activité POD similaire à celui de la variété GOA. Quel que soit le cultivar, l’activité POD est à son niveau le plus élevé au stade de récolte de 9 mois. Ceci s’explique par le rôle de la POD dans le processus de maturation des fruits (Fox, 1991). L’enzyme régule en effet la concentration de l’acide indole acétique (IAA), une hormone chargée de retarder le mûrissement du fruit. Elle joue également un rôle dans la biosynthèse de la lignine des parois cellulaires à partir de phénols solubles. L’eau de coco constitue le substrat à partir duquel se forme l’albumen solide de la noix de coco. Une hypothèse qui pourrait expliquer l’augmentation de l’activité POD

avec le stade de récolte serait donc que l'enzyme participe au phénomène de déclenchement de la formation de l'amande dans la noix. Les observations réalisées par Assa *et al.*, 2010 sur les mêmes variétés de Côte d'Ivoire viennent corroborer cette assertion puisque la formation de l'amande se déclenche avant 5 mois pour le GOA, un peu avant 7 mois pour le PB121, à 5 mois pour le NJM et pour le NVE. L'hybride PB121 accuse donc un « retard » dans le début de formation de l'amande, tout comme il accuse un « retard » dans son niveau d'activité POD. Les niveaux élevés d'activité POD dans l'eau de coco du cocotier grand GOA pourraient également s'expliquer par le fait qu'il a commencé, bien avant le stade de récolte de 7 mois, à développer son albumen dans la noix et a donc eu besoin de bloquer l'action de l'IAA grâce à la POD, chargée d'oxyder l'acide pour le neutraliser.

Afin de comparer les cultivars non seulement entre eux mais également aux données de la littérature, nous avons calculé un ratio PPO/POD qui correspond à l'activité enzymatique des polyphénoloxydases divisée par l'activité enzymatique de la peroxydase (Figure 20).

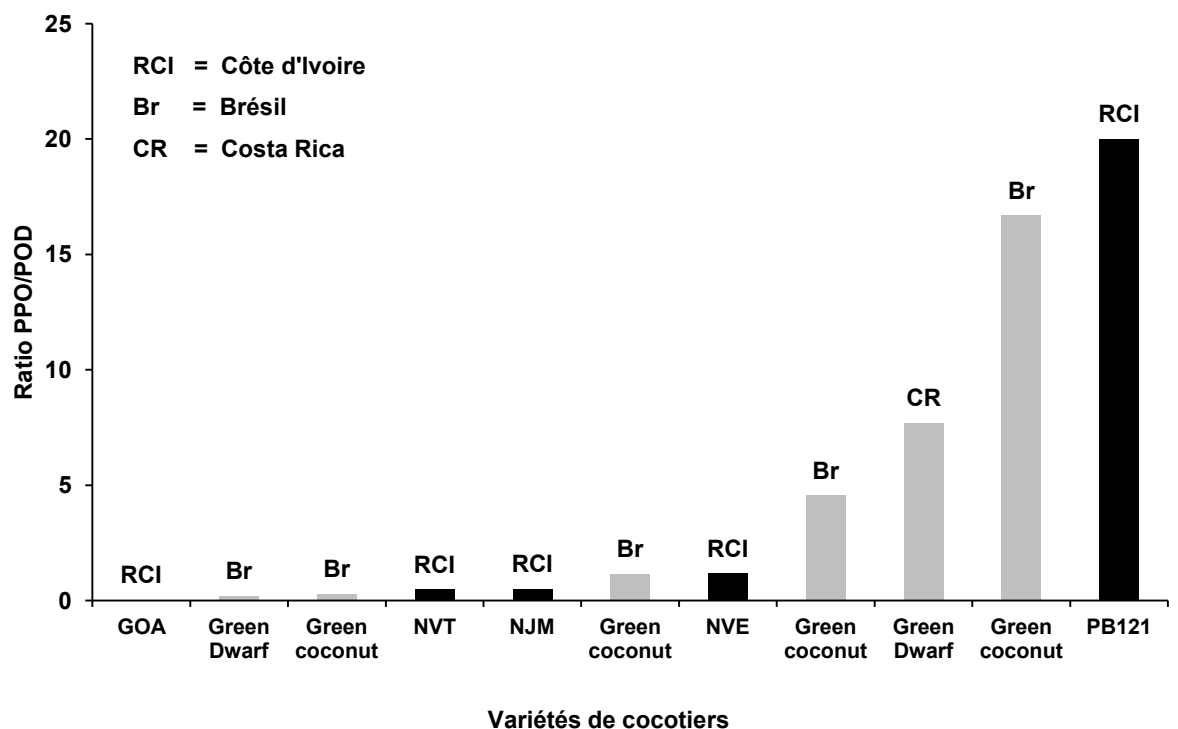


Figure 20. Rapport entre les activités PPO et POD de l'eau de coco des cinq variétés de cocotiers GOA, PB121, NJM, NVE et NVT et de variétés inconnues du Brésil et du Costa Rica récoltées au stade de maturité de 8 mois

Il ressort de la figure 20 que deux variétés étudiées se situent aux extrêmes des valeurs observées pour le ratio PPO/POD. Ce dernier est significativement plus élevé dans l'eau de coco de la variété PB121 et quasi nul dans la variété GOA de Côte d'Ivoire. Comparés aux valeurs observées dans la littérature sur des variétés du Brésil ou du Costa Rica, les cultivars de cocotiers nains de Côte d'Ivoire se répartissent sur les ratios les plus faibles, inférieurs à 2. Les données sur les niveaux d'activité enzymatiques des PPO et POD de l'eau de coco sont rares. Il serait intéressant de poursuivre ces analyses sur un plus grand nombre de cultivars et sur des périodes et stades de récoltes plus nombreux. Des suivis post-récolte de ces paramètres pourraient également être utiles. Les informations recueillies lors de ces suivis donneraient des indications sur les facteurs influençant l'évolution des activités enzymatiques au cours de la maturation du fruit et de son stockage après récolte.

IV.1.3. - Variations du profil aromatique en fonction du stade de récolte et de la variété

L'étude de la littérature nous a aussi montré que le goût et l'arôme de l'eau de coco sont des critères importants d'appréciation de sa qualité. Toutefois, aucune description précise et comparative des composés aromatiques de l'eau de coco provenant de plusieurs variétés de cocotier bien identifiées n'a été trouvée dans les bases de données consultées. Il s'agira dans ce paragraphe de décrire les composés aromatiques de l'eau de coco analysés par la technique de micro-extraction en phase solide en espace de tête suivie d'une séparation par chromatographie gazeuse et d'une identification par spectrométrie de masse.

Cette partie sera composée d'une publication en cours de révision (septembre 2011) dans *Journal of the Science of Food and Agriculture*.

Présentation en français

Caractérisation des composés volatils de l'eau de coco de cinq variétés de cocotiers à trois stades de maturité par analyse HS-SPME-GC

Prades Alexia^{a*}, Assa Rebecca Rachel Ablan^{b-c}, Dornier Manuel^{a-d}, Pain Jean-Pierre^e,
Boulangier Renaud^a

^aCIRAD, UMR 95 QUALISUD, F-34398 Montpellier cedex 5, France

^bCNRA, Programme Cocotier, Station de recherche Marc Delorme, Port-Bouët, Côte d'Ivoire

^cUniversité de Cocody Abidjan, UFR Biosciences, Abidjan, Côte d'Ivoire

^dMontpellier SupAgro, UMR 95 QUALISUD, F-34398 Montpellier cedex 5, France

^eUniversité Montpellier II, UMR 95 QUALISUD, F-34090 Montpellier, France

*Auteur correspondant

Email : alexia.prades@cirad.fr

CIRAD, UMR QUALISUD, 73 Rue Jean-François Breton, TA B-95/16, F-34398 Montpellier cedex 5, France

L'eau de coco est une boisson tropicale rafraîchissante dont le marché international est en plein essor. Cependant sa composition physico-chimique et en particulier son arôme sont encore peu connus. Pour la première fois, les composés volatils de l'eau de coco immature de cinq variétés connues de cocotier sont analysés et décrits à l'aide d'une méthode de micro-extraction en phase solide suivie d'une analyse par chromatographie en phase gazeuse (SPME-GC). Un plan d'expériences a permis d'optimiser les conditions d'extraction de la méthode SPME. La méthode optimisée comprend une phase de mise en équilibre du produit de 10 min à 50°C suivie d'une phase d'extraction de 60 min à 50°C. Grâce à cette méthode, les eaux de coco des variétés GOA (Grand Ouest Africain), PB121 (hybride GOA x NJM), NJM (Nain Jaune de Malaisie), NVE (Nain Vert de Guinée Equatoriale) et NVT (Nain Vert de Thaïlande) ont été analysées et décrites. Les cétones sont la classe chimique de molécules les plus présentes chez le GOA et le PB121 alors que les aldéhydes dominent dans l'eau des variétés naines. L'eau de coco de la variété GOA est plus riche en lactones. Le Nain Vert de Thaïlande, variété dite « aromatique », est caractérisé par la présence d'ethyloctanoate. Une

analyse hiérarchique ascendante basée sur les composés volatils de l'eau des cinq variétés a permis de les classer selon leurs groupes génétiques. Au cours de la maturation du fruit, les composés volatils des eaux de coco des cinq variétés observées évoluent de façon similaire. L'analyse des composés volatils de l'eau contenue dans les noix de coco immatures pourrait aider à la sélection des variétés de cocotier naines, les plus utilisées pour la consommation de noix dites « à boire ».

Mots clés: *Cocos nucifera* L.; SPME; Arôme; Qualité; Génotypes; Maturation

Article tel que soumis

Characterization of the coconut water volatile profile of five varieties at three stages of maturity using HS-SPME-GC analysis

Authors

Prades Alexia^{a*}, Assa Rebecca Rachel Ablan^{b-c}, Dornier Manuel^{a-d}, Pain Jean-Pierre^e,
Boulangier Renaud^a

Affiliations

^aCIRAD, UMR 95 QUALISUD, F-34398 Montpellier cedex 5, France

^bCNRA, Programme Cocotier, Station de recherche Marc Delorme, Port-Bouët, Côte d'Ivoire

^cUniversité de Cocody Abidjan, UFR Biosciences, Abidjan, Côte d'Ivoire

^dMontpellier SupAgro, UMR 95 QUALISUD, F-34398 Montpellier cedex 5, France

^eUniversité Montpellier II, UMR 95 QUALISUD, F-34090 Montpellier, France

***corresponding author**

Email : alexia.prades@cirad.fr

CIRAD, UMR QUALISUD, 73 Rue Jean-François Breton, TA B-95/16, F-34398 Montpellier
cedex 5, France

ABSTRACT

BACKGROUND: Coconut water (*Cocos nucifera* L.) is a refreshing tropical drink whose international market has been recently growing. However its physicochemical composition and particularly, its aroma is still little known.

RESULTS: The volatile compounds of the immature coconut water of five well identified varieties were for the first time characterized using an optimized solid phase microextraction (SPME) and gas chromatography analysis. An experimental design was conducted to optimize the SPME conditions of the volatile compounds. The SPME extraction method had an incubation time of 10 min followed by an extraction time of 60 min at 50°C. Accordingly, the coconut water of WAT (West African Tall), PB121 (Hybrid MYDxWAT), MYD (Malayan Yellow Dwarf), EGD (Equatorial Guinea Green Dwarf), and THD (Thailand Aromatic Green Dwarf) were analyzed and described.

CONCLUSION: Ketones were mainly present in Tall and Hybrid varieties whereas aldehydes were mostly abundant in the Dwarf varieties. Tall coconut water was characterized by a high lactones content. THD, the so-called “aromatic Dwarf” exhibited high ethyloctanoate. The cluster analysis of the five coconut cultivars volatile fraction was found to be related to their genetic classification. Their volatile profile showed similar changes during maturation. Volatile profile analysis may improve the selection of coconut Dwarf varieties which are mainly consumed as a beverage.

Keywords: *Cocos nucifera* L.; SPME; Aroma; Quality; Genotypes; Maturation

INTRODUCTION

Coconut (*Cocos nucifera* L.) is a well known tropical plant cultivated in the equatorial and sub-equatorial areas to produce copra: the dried kernel that is later processed into oil. However coconut tree is also called the “tree of life” in Asia and can provide many other useful goods. Coconut water or coconut juice is a traditional sweet and refreshing tropical drink coming directly from the inner part of immature fruit.¹ It is often confused with coconut milk which is the white and oily liquid extracted from the grated fresh kernel. When being consumed in coconut producing countries, coconut water is extracted from fresh immature (or green) coconut fruits or directly drunk inside the natural coconut vessels with a straw. Although coconut water is sterile in the inner cavity of the nut², it is a very fragile fluid. As soon as the nut is cracked, the coconut water biochemical composition and physical aspects change. With an average pH of 5, microorganisms such as yeasts can grow easily on this natural medium.³ A particular mineral composition and reasonable total sugar content make coconut water a natural isotonic liquid. Coconut water inner characteristics make it the ideal rehydration and refreshing drink after effort.⁴ In Asia and in Brazil, the market of canned, bottled or tetra-packed coconut water is continuously growing. The beverage is now arriving in Europe and in the US where it is sold as a natural “sports-drink”. However the aroma of coconut water is still little known. The immature coconut water flavor has been described using sensorial analysis thanks to 7 descriptors.⁵ For the aroma, descriptors were *putrid*, *tonic*, *or ferruginous* and for the taste *ferruginous*, *acid*, *sweet* or “*passed*” (over matured). But, even very useful, sensorial analysis is highly dependant on the jury expertise and individualities. It will describe but will not explain the aromatic profile of coconut water.

The Head-Space Solid-Phase Microextraction (HS-SPME) is a relatively recent and simple method to analyze the volatile compounds of biological products.⁶ As the technique is free of solvent, it could be a good solution for laboratories where solvents are not easily

available or not affordable. HS-SPME has been successfully applied to various fruit juices such as citrus⁷ or tomato.⁸ Thus, it was chosen for the extraction and identification of the immature coconut water volatile compounds. Based on our literature survey, two articles dealing with coconut water aroma were identified. The first article is entitled a “Solid-Phase-Microextraction-headspace Aroma Compounds of Coconut Milk and Meat from Cameroon”.⁹ The “coconut milk”, as cited in the title, is not the milk extracted from the fresh grated kernel but is in fact the coconut water. The SPME-headspace aroma compounds of the mature water and kernel of a Cameroon unknown coconut variety is being investigated by GC/FID (flame ionization detection) and GC/MS using different achiral and chiral phase GC columns. The second article¹⁰ deals with the hydrodistillation and solvent extraction of an immature unknown green coconut water from Brazil. Unfortunately, the first investigation has been carried out with mature coconut water which is far less aromatic than the immature one, whereas the second one do not mention neither the stage of maturity, nor the coconut variety.

Thereby, this work aimed at optimizing the SPME extraction method of the coconut water compounds while describing the volatile fraction of five well identified coconut varieties issued from a germplasm collection in Côte d’Ivoire, and looking at the evolution of the volatile compounds profile during maturation.

EXPERIMENTAL

Plant material

For the development of the method, partially husked immature coconut fruits were imported from Thailand (Wabu Brand) and stored 2 days at 14°C prior to analyses. For the variety investigation, coconut fruits were harvested at the coconut tree collection of the Centre National de la Recherche Agronomique (CNRA), Port-Bouët Station, Côte d’Ivoire. Five coconut cultivars (Table 1) were selected for the study: West African Tall (WAT), PB121 (Hybrid MYDxWAT), Malayan Yellow Dwarf (MYD), Equatorial Guinea Green Dwarf

(EGD) and Thailand Aromatic Green Dwarf (THD). Coconut fruits were collected on one bunch of each tree at three stages of maturity: 7, 8 and 9 months which correspond in the coconut tree frond to rank 19, 20, and 21, respectively. Whole fruits were directly sent to the laboratory, stored at 14°C, and were analyzed within 5 days. Before collecting coconut water, fruits were soaked in tap water, washed and dried on a clean surface. Coconut water was extracted using a 60 ml sterile syringe after partial husk removal with a stainless steel knife. Fresh immature coconut water was briefly characterized by measuring its weight (g), pH, and total soluble solids content (TSS) thanks to a manual refractometer ATAGO. Not surprisingly, coconut water weight and TSS were found significantly higher in the Dwarf varieties, justifying their preference for beverage applications.¹¹ For GC-SPME analysis, 5 mL aliquot of coconut water was placed in a 10 mL glass vial containing 2 g of pure NaCl sealed using a butyl/Teflon septum with an aluminium cap.

HS-SPME extraction

The optimization of the extraction procedure was accomplished by a multivariate experimental design. Among others, the extraction efficiency of the fiber coatings, the agitation of the liquid into the vial, the presence or absence of salt, the time and temperature of incubation, and the time and temperature of extraction are major factors contributing to the sensitivity of SPME technique. The objective was to optimize (i) the incubation time, (ii) the extraction time and (iii) the incubation/extraction temperature. Consequently, a three factors two levels full factorial design was settled (Table 2). The full factorial design allowed the evaluation of several variables at the same time while minimizing the number of experiments (11 trials). Based on preliminary investigations, the levels of the three variables for incubation time, for extraction time and for incubation/extraction temperature were set to 20 and 30 min, 10 and 60 min, and 30 and 50°C respectively. The 10 mL vial containing 5 mL aliquot coconut water and pure NaCl were magnetically stirred (400rpm) at various time and

temperature according to the experimental design. The vial temperature was regulated using a thermostatic aluminium container placed on a stirring hotplate. The sensitivity of two commercial SPME fibers (Supelco Inc., Bellefonte, PA, USA) was tested by selecting two different coatings : StableFlex divinylbenzene/CarboxenTM/PDMS (DVB/CAR/PDMS) and CarboxenTM/Polydimethylsiloxane (CAR/PDMS). Based on the comparison of the total peak area of the chromatogram of a coconut water sample, the SPME fiber coated with 75µm CAR/PDMS was finally adopted for the analysis. All fibers were conditioned according to the manufacturer's recommendations prior to their first use. The responses of the experimental design were based on total peak area (or sum of the individual peak areas) of GC/FID chromatogram and also based on the percentage of area of one given compound to the total peak area. All the experiments were carried out on the same GC apparatus in the same conditions. The statistical analyses were completed thanks to Statistica, version 7.1. (StatSoft, Inc.).

GC/FID analysis

After adsorption of volatile compounds on the SPME fiber, the coating was injected into an HP-5890 (Avondale, PA) gas chromatograph at 250°C and kept for 5 min in splitless mode for the desorption of flavor compounds. The separation was done on a DB-WAX (J&W, Scientific, Folsom, CA) fused silica capillary column (60 m x 0.32 mm i.d., 0.25 µm film thickness) and the detection was done using flame ionization. The temperature of GC raised from 40 to 150°C at 2°C/min then increased from 150 to 210°C at 6°C/min and was held at 210°C for 10 min. The carrier gas was helium at 2 ml/min. The total GC run time was of 84 min. Samples were manually injected. Total and individual peak areas were considered as the analytical responses. The peak areas of the different compounds of each category were added and divided by the total peak area of the compounds. The identification of the compounds was based on their retention indices according to the literature and by

synchronizing these results with those of the GC/MS analysis. The comparison of the five different coconut water varieties was performed using multiple range mean analysis thanks to XLStat, Version 2009.6.02. (Addinsoft SARL) and classical ascendant classification analysis using Statistica, version 7.1. (StatSoft, Inc.).

GC/MS analysis

The coconut water samples were analyzed on an HP-6890A GC connected to an HP-5973N MS with the same DBWAX (J&W Scientific) capillary column (60 m x 0.32 mm i.d., 0.25 µm film thickness). Column temperature programme was similar to that of GC/FID analysis. Injection was in splitless mode for 5 min at 250°C with a specific SPME insert. Helium was used as carrier gas at a constant flow mode (1.5 ml/min). The MS source temperature was 150°C, and the mass spectra were scanned in EI+ mode with a current of 70 eV. The mass range scanned from m/z 40 to 250. Linear retention indices were calculated after analysis under the same conditions of a C8-C20 n-alkane series (Supelco Inc., Bellefonte, PA, USA). The identification of the volatile compounds was done by comparing their mass spectra with those of the reference database (Wiley Mass Spectral Data). The identified volatile compounds were sorted in different groups of molecules as alcohols, ketones, aldehydes, esters, acids and lactones. The unidentified peaks were labeled as “others”.

RESULTS AND DISCUSSION

HS-SPME extraction method development

Immature coconut water samples exhibited chromatograms with more than hundred peaks. The optimization step was based on a selection of 36 analytes showing an individual relative standard deviation (RSD) of less than 20% and a mean RSD of 7% calculated at the central point of the experimental design done in triplicate. The peak areas of these 36 compounds, were then used for the analysis of variance (ANOVA) to assess whether the three

tested experimental variables and their interactions were significant on the HS-SPME extraction process.

As observed in Fig. 1, the Pareto chart showed a significant positive effect at the 95% confidence level of the three factors: incubation time, extraction time and temperature on the total peak area of the 36 compounds. These positive effects mean that increasing extraction time or temperature will increase the total peak area. However the interaction between temperature and extraction time (1*3), was the most significant and negatively affected the total peak area of the 36 volatile compounds. The latter may suggest that the 36 components might behave differently during the HS-SPME step. Therefore, the 36 compounds were sorted into groups of molecules: alcohols, ketones, aldehydes, acids, esters, lactones and others. During this optimization step, alcohol molecules were the most represented group (45.4%) followed by ketones (25.8%), aldehydes (17.9%), others (unidentified compounds) (5.4%), acids (3.8%), esters (1.3%) and lactones (0.4%). Considering alcohols, ketones and aldehydes, these accounted for 89.1% of the total percentage of the peak area. Further analyses were then based on these sorted groups of compounds.

The Pareto charts performed on the alcohols, ketones and aldehydes groups (Fig. 1) showed different behaviors. Extraction time and temperature showed antagonistic effects on alcohols on one side and on ketones and aldehydes on the other side. They positively affected the percentage of the alcohols peak area, but significantly decreased the proportion of the aldehydes. The ketones peak area percentage was more affected by their interaction (1*3). Eventually, incubation time exhibited a slight positive effect on the ketones and aldehydes peak area percentages and did not affect the alcohols. The incubation time was therefore selected at 10 min as its effect could be neglected for the compounds profile analysis. As a consequence, the next step will focus on the extraction time and temperature effects. The response surface plots were used to visualize the influence of both factors on the molecule

adsorption phenomena and select the conditions of SPME extraction. The total peak area of the 36 selected compounds of coconut water and their alcohols peak area percentage were the highest after 60 min of extraction time at 50°C (Fig. 2). On the contrary, ketones peak area percentage seemed to be lowest in the same experimental conditions and aldehydes exhibited a decreasing peak area percentage while temperature and time of extraction rose.

The various behaviors related to the different nature of the molecules could be explained by their various partition coefficient values between the fiber coating, the gaseous headspace and the liquid phase.⁶ In our conditions of a well-agitated liquid phase, the limiting step of the extraction phase is the diffusion in the headspace. The diffusion phenomena in the headspace is controlled by the concentration gradient of the analytes (Fick's first law) which is related to the K_H value (Henry's constant) or partition coefficient between the liquid and gaseous phases. Accordingly, the diffusion phenomena increase as K_H becomes larger. Temperature and salt concentration are known to increase K_H constant¹², hence increase the concentration gradient in the headspace. This could explain the increasing peak area percentages of the alcohols as the temperature raised from 30 to 50°C. However, an excessive increase in temperature combined to a long extraction time can also cause premature desorption of analytes^{13,14}. This was confirmed as we observed this "high temperature-long time: HT-LT" effect on ketones and aldehydes desorption. As a conclusion, a long time of extraction did not favor the extraction of ketones or aldehydes in coconut water on a CAR/PDMS fiber, but was suitable to get the highest total peak area and the highest alcohols peak area percentages, the major compounds of the analyzed immature coconut water. Thus, an extraction time of 60 min at 50°C was selected to analyze the aromatic profile of coconut water by the HS-SPME-GC-FID technique.

To finalize this optimization step, a comparison between the observed and predicted data was conducted at the experimental point corresponding to the preselected analytical

conditions (T=50°C, incubation time 10 min and extraction time 60 min). The accuracy of the model was good, since the predicted values were closed to the observed experimental ones (Table 3). The precision of the model which was calculated by dividing the confidence limit at 95% by the mean predicted peak area percentage was also good except for the unidentified compounds labeled “others”. The latter gathered different categories of molecules which exhibited different behaviors difficult to simulate. Nevertheless, the accuracy and precision of the model were considered as good enough for our purpose.

SPME-GC-FID analysis of coconut varieties

Description of the volatile compounds of immature coconut water

After the method development step, the optimized SPME-GC-FID method was applied to the analysis of five different coconut varieties harvested in the CNRA Coconut Tree Research Station at Port-Bouët, Côte d’Ivoire. The chromatograms of immature coconut water samples showed 55 major peaks (Table 4). Out of the 55 compounds, 41 were successfully identified including 21 new molecules.

The largest groups observed in coconut water were ketones, alcohols and aldehydes (Table 4). Among the 6 different ketones, the pent-3-en-2-one was the most abundant compound in the five coconut varieties studied. 2-pentanone was earlier identified in coconut water and coconut kernel by Jirovetz *et al.*⁹ Ketones usually provide the aroma of food with notes such as fruity, floral or citrus. The ketones found in coconut water seemed responsible of fruity, sweet and creamy or butyric notes. Following ketones, 13 alcohol molecules were detected with 2 and 3-methyl-butan-1-ol being the most abundant. Alcohols exhibited the most diverse patterns followed by aldehydes (9 different molecules). The group of 9 aldehydes with hexanal as first was supposed to bring green, fresh and almond notes. Light aldehydes could have been formed by the auto-oxydation of the saturated fatty acids.¹⁵ Hexanal may come from the action of lipxygenase on poly-unsaturated linoleic and linolenic

acids.¹⁶ Four acid molecules in C6, C8, C9 and C10 were present, reminding of the oily nature of the coconut crop. Esters which are usually characterized by a particular aroma, exhibited limited amounts and did not showed a particular scent. As usually reported in the volatile fraction of coconut kernel^{17, 18}, three different lactones: delta-octalactone, delta-nonolactone and delta-decalactone were also detected in coconut water, but with less quantities than in coconut kernel products. Out of the three lactones, the delta-octalactone was the most abundant. The lactones combined with 1-hexanol, are responsible of the typical coconut aroma.¹⁹ However, their presence in all coconut water samples in very low percentage might explain the difference between the aromatic perception of coconut water and the classical coconut kernel flavor. Finally, the “others” group of molecules gathered ca. 11% of the total GC peak area and will need further analysis to fulfill the description of the volatile fraction of coconut water. Nevertheless, coconut water SPME-GC-FID analysis revealed a typical profile with a prevalence of ketones, alcohols and aldehydes, whereas low levels of the coconut kernel “lactones fragrance” was observed.

Using SPME-GC-FID analysis of mature coconut water, Jirovetz *et al.*⁹ previously identified 30 compounds. Only 15 compounds were identical to those being identified in this study. The major volatile compounds of our five immature coconut water samples were pent-3-en-2-one, 2 and 3-methyl-butan-1-ol, octanoic acid, hexanal, hexanoic acid, hexanol, and octanol, whereas Jirovetz *et al.*⁹ identified nonanal, 1-nonanol, heptanal, ethyl-octanoate, heptanol and 2-nonanol as the main compounds of mature coconut water volatile fraction. In the essential oil of the Brazilian coconut water, Da Fonseca *et al.*¹⁰ obtained alcohols, ketones, thiols, carboxylic acids, phenols, and esters having short carbon chains by hydrodistillation and by solvent extraction. The authors suggest that among these compounds, ester n-propyl ethanoate is probably responsible for the flavor of coconut water. N-propyl ethanoate was not clearly identified in this study. The volatile compounds profiles of coconut

water described by Jirovetz *et al.*⁹ and Da Fonseca *et al.*¹⁰ were rather different from the ones of the five coconut varieties harvested in Côte d'Ivoire. On one hand, the differences observed may be due to the type of SPME fibers: DVB/CAR/PDMS for Jirovetz *et al.*⁹ and CAR/PDMS for the present study. On the other hand, various coconut varieties and stage of maturity are considered. These last criteria are crucial for coconut water beverage quality.^{20,21} The variety and the stage of maturity at harvest should always be considered when investigating coconut water composition.¹¹

Comparison of the volatile compounds of the five coconut varieties

With regard to the volatile molecule group variations among coconut varieties (Fig. 3), the West African Tall (WAT) and Hybrid (PB121) varieties exhibited higher levels of ketones than Dwarf varieties (MYD, EGD and THD). The WAT coconut water exhibited one of the lowest levels of aldehydes but the highest percentage of lactones compared to other varieties. WAT was clearly characterized by the presence of the delta-octalactone. This result can be explained by the biosynthesis of the lactones which could come from the fatty acids anabolism pathway via the (R)-3-hydroxyacid for the (R)- lactones enantiomer or via the beta-oxidation for the (S) enantiomer.¹⁹ Moreover, the kernel of the Tall coconut varieties begin to store lipids at an earlier stage of maturity (about 5 months) than PB121 and Dwarf varieties.²² Accordingly, the prevalence of lactones in WAT coconut water over the hybrid and Dwarf varieties could be explained by the fatty acids synthesis which is a source of lactone (R) molecules. This particularity could help to discriminate coconut water among Tall, Hybrid and Dwarf varieties, thus to detect a possible adulteration.

The Hybrid variety PB121, like WAT, exhibited high levels of ketones but had similar low level of lactones as MYD, a Dwarf variety. As PB121 is a genetic cross between MYD and WAT²³, its volatile compounds profile might be influenced by both parents: high ketones level coming from WAT and low lactones level coming from MYD. Among Dwarf varieties,

MYD presented the highest percentage of aldehydes, and in particular transbut-2-enal. The floral note of the latter might contribute to the consumer predilection for this Dwarf coconut water. EGD exhibited a low percentage of acids (hexanoic and octanoic acids). THD differed from both MYD and EGD in its low level of aldehydes and its high proportion of esters composed of 62% of ethyldecanoate, 23% of ethyloctanoate and 15% of ethylhexanoate. The ethyloctanoate fraction (23%) was higher for THD than for MYD (6%), and for EGD (not detected). Moreover, one “unidentified” molecule (RI = 1020) exhibited a higher percentage of the total GC peak area for THD (2.9%) than for PB121 (0.7%), WAT (0.1%), MYD (0.1%) and EGD (not detected). The mass spectrum of this molecule suggested that it could be classified into the ester group. To support this result, Da Fonseca *et al.*¹⁰ detected n-propylethanoate (or n-propylacetate) in green coconut water by both hydrodistillation and solvent extraction and concluded that this molecule was probably responsible for the flavor of coconut water. The presence in THD coconut water of the unknown ester molecule combined to the highest level of ethyloctanoate and the high percentage of alcohols, especially 2 and 3-methyl-butan-1-ol, and 1-hexanol may contribute to the aromatic reputation of the THD variety. THD is known for its unique aroma and flavor²⁴ and, when available, is preferred for the coconut water beverage market.

Finally, an ascendant hierarchical classification was performed on the raw GC peak area of the 55 compounds selected to describe the 5 coconut accessions: WAT, PB121, MYD, EGD and THD. As shown in the dendrogram (Fig. 4), the five varieties have been sorted into three logical classes. WAT was first isolated from hybrid PB121 and Dwarfs. Dwarf varieties were then isolated from Tall and Hybrid. As expected, the Hybrid PB121 was located between its parents WAT and MYD. The cluster analysis based on the volatile compounds was thus efficient and matched the genetic classification. Nevertheless, further researches on

the same varieties harvested on a longer period and in different places are needed to confirm this result.

Variation of the volatile compounds of immature coconut water with maturity

The qualitative variation of the volatile compounds of the coconut water during the maturation process has been studied on the five coconut varieties: WAT, PB121, MYD, EGD, and THD. The coconut water at the stages of maturity of 7, 8 and 9 months were analyzed using the same SPME-GC-FID protocol.

The coconut water of the five varieties showed the highest total peak area at 9 months old (Fig. 5). The West African Tall variety (WAT) exhibited a total peak area significantly higher than those of the hybrid and Dwarf varieties at 9 months.

The volatile compounds were then sorted into groups of ketones, alcohols, aldehydes, acids and “others”. In this case, the “others” label gathered the esters, lactones and “unidentified” molecules. The evolution of the different groups of volatile compounds during maturation is shown in Fig.6. As the volatile fractions of the Dwarf coconut water samples (MYD, EGD and THD) exhibited similar variations, EGD and THD data were not shown on Fig.6 which focused only on WAT, PB121 and MYD. At 7 month old stage, the volatile compounds profiles were very heterogeneous among varieties. WAT exhibited a high percentage of alcohols (27%) and low levels of aldehydes and ketones (20%). PB121 hold the highest level of ketones (41%) and the lowest level of alcohols (9%). MYD coconut water was marked by a high percentage of aldehydes (28%). At 8 month old, the volatile compounds profile seemed more homogeneous with less variation within varieties. The profile looked also more equilibrated for each variety, as the proportions of the different classes of molecules were equivalent on the five axes. Only WAT was distinguishable due to its ketones percentage, whereas MYD exhibited the highest content in aldehydes. At 9 month

old, the volatile compounds profile was also relatively homogenous but not equilibrated. Ketone molecules were clearly the major compounds of the aromatic profile for all varieties.

Considering the overall evolution of the volatile compounds profile during maturation, the alcohols percentage seemed to be inversely related to the ketones percentage as it fell down from 30 to 20% while ketones rose from 40 to 55%. An oxydation phenomenon of alcohols into ketones could be hypothesized during the 3 months growing period. The acids did not significantly fluctuate for all the varieties from 7 to 9 months. The proportion of aldehydes tended to decrease during the same period for all the variety except for THD. The “green notes” usually brought by the aldehydes molecules like hexanal, logically decreased throughout the maturation²⁵.

CONCLUSION

This study, conducted for the first time on controlled and well identified coconut accessions, showed the effects of the variety and the stage of maturity on the coconut water volatile compounds and thus on the coconut water aromatic quality. Further researchers are needed to identify all the detected compounds and to understand the mechanisms involved in their biosynthesis throughout the maturation process. The volatile compounds identified in coconut water might become new criteria to support the choice of raw material for coconut water manufacturers. They could also contribute to new breeding strategy, especially for the selection of Dwarf varieties which are mainly consumed as a beverage.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors are grateful to Mr. Smaili Driss for his help in laboratory work during method development stage.

REFERENCES

1. Steiner I and Desser A, Coconut water - composition, properties and processing. *Ernahrung* **32**:513-516 (2008).
2. Anzaldo FE, Kintinar QL, Recto PM, Velasco RU, De La Cruz F and Jacalne A, Coconut water as intravenous fluid. *Philippine Journal of Coconut Studies* **10**:31-43 (1985).
3. Sierra ZN and Velasco JR, Studies on the growth factor of coconut water - Isolation of the growth promoting activity. *The Philippine Journal of Coconut Studies* **1**:11-18 (1976).
4. Saat M, Singh R, Gamini Sirisinghe R and Nawawi M, Rehydration after Exercise with Fresh Young Coconut Water, Carbohydrate-Electrolyte Beverage and Plain Water. *Journal of PHYSIOLOGICAL ANTHROPOLOGY and Applied Human Science* **21**:93-104 (2002).
5. Abreu LF, Araujo AV, Araujo EAF, El Aouar AA, Neumann D, Morais MM and Silva MAAPd, Sensorial profile and acceptance of coconut water samples obtained from different manufacturing processes - Perfil sensorial e aceitabilidade de amostras de agua-de-coco obtidas por diferentes processos de fabricacao. *Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos* **23**:397-412 (2005).
6. Zhang ZY and Pawliszyn J, Headspace solid-phase microextraction. *Analytical Chemistry* **65**:1843-1852 (1993).
7. Miyazaki T, Plotto A, Goodner K and Gmitter FG, Jr., Distribution of aroma volatile compounds in tangerine hybrids and proposed inheritance. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **91**:449-460 (2011).
8. Servili M, Selvaggini R, Taticchi A, Begliomini AL and Montedoro G, Relationships between the volatile compounds evaluated by solid phase microextraction and the

- thermal treatment of tomato juice : optimization of the blanching parameters. *Food chemistry* **71**:407-415 (2000).
9. Jirovetz L, Buchbauer G and Ngassoum MB, Solid-phase-microextraction-headspace aroma compounds of coconut (*Cocos nucifera* L.) milk and meat from Cameroon. *Ernährung/nutrition* **27**:300-303 (2003).
 10. Da Fonseca AM, Bizerra AMC, Souza JSNd, Monte FJQ, Oliveira MdCFd, Mattos MCd, Cordell GA, Braz-Filho R and Lemos TLG, Constituents and antioxidant activity of two varieties of coconut water (*Cocos nucifera* L.). *Revista Brasileira de Farmacognosia* **19**:193-198 (2009).
 11. Prades A, Dornier M, Diop N and Pain JP, Coconut water: its uses, properties, and composition. Part I. *Fruits* **accepted** (2012a).
 12. Falabella JB, Nair A and Teja AS, Henry's constants of 1-alkanols and 2-ketones in salt solutions. *Journal of Chemical and Engineering Data* **51**:1940-1945 (2006).
 13. Ho CW, Wan Aida WM, Maskat MY and Osman H, Optimization of headspace solid phase microextraction (HS-SPME) for gas chromatography mass spectrometry (GC-MS) analysis of aroma compound in palm sugar (*Arenga pinnata*). *Journal of Food Composition and Analysis* **19**:822-830 (2006).
 14. Risticevic S, Carasek E and Pawliszyn J, Headspace solid-phase microextraction-gas chromatographic-time-of-flight mass spectrometric methodology for geographical origin verification of coffee. *Analytica Chimica Acta* **617**:72-84 (2008).
 15. Jaddou H, Mhaisen MT and Al-Hakim M, Flavour volatile analysis of Zahdi dates by gas liquid chromatography. *Date Palm Journal* **3**:367-379 (1984).
 16. Crouzet J and Seck S, Tomato aroma Biochemical and chemical mechanisms of formation of constituents. *Parfums, Cosmétiques, Aromes*:71-74, 77-79, 81-84 (1982).

17. Lin FM and Wilkens WF, Volatile flavor components of coconut meat. *Journal of Food Science* **35**:538-539 (1970).
18. Pfannhauser W, Eberhardt R and Woidich H, Aroma analysis in food chemistry by GC/MS techniques : determination of natural and artificial coconut flavour. *Mikrochimica Acta* **1**:p.159-167 (1982).
19. Dufossé L, Latrasse A and Spinnler HE, Importance des lactones dans les arômes alimentaires : structure, distribution, propriétés sensorielles et biosynthèse. *Sciences des aliments* **14**:17-50 (1994).
20. Kwiatkowski A, Clemente E, Scarcelli A and Batista V, Quality of coconut water 'in natura' belonging to Green Dwarf fruit variety in different stages of development, in plantation on the northwest area of Parana, Brazil. *International journal of food agriculture and environment* **6**:102-105 (2008).
21. Assa RR, Konan JL, Agbo N, Prades A and Nemlin J, Caractéristiques physico-chimiques de l'eau des fruits de quatre cultivars de cocotier (*Cocos nucifera* L.) en Côte d'Ivoire. *Agronomie Africaine* **19**:41-51 (2007).
22. Assa RR, Konan K. JL, Prades A, Nemlin J and Koffi E, Physicochemical characteristics of kernel during fruit maturation of four coconut cultivars (*Cocos nucifera* L.). *African Journal of Biotechnology* **9**:2136-2144 (2010).
23. Bourdeix R, N'Cho YP, Sangare A, Baudoin L and De Nuce de Lamothe M, The improved PB121 coconut hybrid, a cross between the Malayan Yellow Dwarf and selected West African Tall. *Oléagineux* **47**:619-630 (1992).
24. Bourdeix R, Konan JL and N'Cho YP, *Coconut: a guide to traditional and improved varieties*. Diversiflora, Montpellier (2005).

25. Mazida MM, Salleh MM and Osman H, Analysis of volatile aroma compounds of fresh chilli (*Capsicum annuum*) during stages of maturity using solid phase microextraction (SPME). *Journal of Food Composition and Analysis* **18**:427-437 (2005).

Table 1. Cultivar name, type and fruit physicochemical traits of the five coconut palm accessions (*Cocos nucifera* L.)

Cultivar name	International standard abbreviation	Varietal type	Nut weight (g)	Coconut water weight (g)	Ratio water/nut (% w/w)	pH	TSS (g/100g)
West African Tall	WAT	Tall	1493 ^a	123 ^a	8 ^a	5.5 ^a	5.5 ^a
Hybrid MYD x WAT	PB121	Hybrid	1990 ^a	304 ^b	15 ^a	5.3 ^{ab}	5.3 ^a
Malayan Yellow Dwarf	MYD	Dwarf	1389 ^a	237 ^{ab}	17 ^a	5.3 ^{ab}	6.5 ^b
Equatorial Guinea Green Dwarf	EGD	Dwarf	1726 ^a	155 ^{ab}	8 ^a	5.0 ^b	6.4 ^b
Thailand Aromatic Green Dwarf	THD	Dwarf	1980 ^a	202 ^{ab}	10 ^a	5.6 ^a	5.9 ^{ab}

Mean values followed by two different letters in the same column are significantly different at $p \leq 0.05$

Table 2. Full 2³ experimental design with three replicates at central points - randomized sequence

Experiment	Variables (uncoded levels)		
	Temperature (°C)	Incubation time (min)	Extraction time (min)
9 (Center)	40	20	35
2	50	10	10
4	50	30	10
1	30	10	10
11 (Center)	40	20	35
5	30	10	60
8	50	30	60
6	50	10	60
3	30	30	10
7	30	30	60
10 (Center)	40	20	35

Table 3. Observed and predicted values of the total GC peak area percentage (%) of the coconut water compounds extracted by HS-SPME

Type of compounds	Observed value (%)	Predicted value (%)	Accuracy of the model (%)	Precision of the model (%)
Alcohols	47.6	49.7 ± 0.5	2.1	1.0
Ketones	21.8	22.4 ± 0.9	0.6	4.3
Aldehydes	13.4	12.3 ± 0.4	-1.1	3.1
Acids	10.5	9.0 ± 0.2	-1.5	1.9
Others	4.9	4.8 ± 0.8	-0.1	16.8
Esters	1.0	1.0 ± 0.1	0.1	5.8
Lactones	0.8	0.7 ± 0.05	-0.1	5.7

Means ± Confidence limits at 95%

Table 4. Identification of the coconut water volatile compounds by SPME-GC-FID

RT (min)	Compound name	RI exp.	RI lit.	Average GC peak area (10 ⁵ arbitrary unit)					Odors (from litterature)
				WAT	PB121	MYD	EGD	THD	
4.10	ethanal*	721	714	0.25	0.72	0.50	0.38	0.28	fruity, green apple
4.74	n.i.	761		0.09	0.06	0.10	0.10	0.05	
4.96	2-methylpropanal*	774	789	0.25	0.12	0.23	0.07	0.05	green, fresh, floral
5.02	acetone (propan-2-one)*	778	818	0.06	0.05	0.10	0.06	0.05	fruity, sweet
5.94	n.i.	836		0.01	0.03	0.02	0.04	0.05	
6.13	ethyl acetate + others*	851	898	0.21	0.09	0.26	0.14	0.07	pineapple
6.48	butan-2-one*	869	881	0.14	0.08	0.18	0.11	0.16	chocolate, chemicals, gas, light, cheese, butter
6.67	2-methylbutanal*	884	903	0.06	0.04	0.10	0.05	0.05	burnt, almond, cocoa, green herb, fruity, malt
6.78	3-methylbutanal	891	906	0.03	0.09	0.06	0.07	0.18	almond, cheese, chocolate, malt, fermented
7.60	n.i.	921		0.28	0.40	ND	ND	0.13	
8.67	butan-2,3,dione*	959	983	0.18	0.36	0.35	0.25	0.26	butter, caramel, cream, fruit, pineapple
9.80	n.i.	997		0.02	tr	0.03	0.02	0.02	
10.89	n.i.	1020		0.03	0.13	0.01	ND	0.45	
11.17	n.i.	1026		0.06	0.02	0.10	0.08	0.10	
11.50	trans but-2-enal*	1035	1047	0.40	0.43	0.73	0.29	0.65	floral
12.45	propan-1-ol*	1053	1037	0.03	0.03	0.05	0.04	0.05	alcohol
13.20	2,3,5 trimethylfuran*	1071	1056	0.05	0.31	0.07	0.07	0.16	
14.23	hexanal	1093	1085	1.03	1.30	1.13	0.43	0.76	green herb, leafy, vineyard, green
15.75	n.i.	1123		0.14	0.09	0.02	ND	0.11	

RT (min)	Compound name	RI exp.	RI lit.	Average GC peak area (10 ⁵ arbitrary unit)					Odors (from literature)
				WAT	PB121	MYD	EGD	THD	
15.81	2-methyl-propan-1-ol*	1125	1108	0.07	0.04	0.07	0.03	0.05	bitter, alcohol, glue, leek, licorice
17.43	pent-3-en-2-one	1148	1120	9.70	6.21	2.68	1.64	4.16	hot, sweet
21.51	2 and 3-methyl-butan-1 ol + others	1216	1206	3.59	1.54	1.42	0.73	2.70	butter, malt, wine, balsamic, ripe onion, burnt, hot, alcohol, fruity, cheese, sweet, green
22.13	ethyl hexanoate	1226	1232	0.03	0.01	0.02	0.02	0.02	unripe, apple, fruity, sweet, green
22.74	n.i.	1237		0.04	0.02	0.02	0.03	0.03	
24.39	pentan-1-ol	1261	1244	0.07	0.13	0.19	0.04	0.09	fruity, green, hot, sweet
26.38	3-hydroxy-butan-2-one	1292	1272	0.24	0.39	0.48	0.19	0.28	humid, fatty, butter
27.62	n.i.	1310		0.26	0.09	0.17	0.05	0.02	
29.27	3-methyl-but-2-en-1-ol*	1337	1322	0.08	0.05	0.11	0.08	0.02	
29.86	6-methyl-hept-5-en-2-one*	1346		0.05	0.02	0.03	0.04	0.02	fruity, green apple, cream, banana
31.41	hexan-1-ol	1370	1392	0.49	0.49	0.19	0.09	0.27	floral, toasted bread, dry, fruity, herbs, sweet wood, leafy, green herb
36.39	ethyl octanoate	1448	1429	0.06	0.06	0.01	ND	0.04	apple, fruity, sweet, pear, pineapple
37.77	acetic acid + oct-3-en-1-ol	1471	1477	0.05	0.09	0.33	0.04	0.07	vinegar
38.23	heptan-1-ol	1478	1453	0.08	0.11	0.13	0.08	0.10	fresh, nut, green, wood
40.40	2-ethyl-hexan-1-ol*	1513	1487	0.15	0.17	0.25	0.09	0.15	
41.87	benzaldehyde*	1538	1522	0.10	0.11	0.10	0.08	0.07	sugar, burnt, almond, wood
44.07	n.i.	1572		0.33	0.16	0.36	0.17	0.21	
44.79	octan-1-ol	1586	1565	0.47	0.31	0.32	0.16	0.34	metallic, sulfur, burnt matches , toasted bread, fines herbes, fatty, green, floral
46.46	n.i.	1612		0.53	0.33	0.53	0.34	0.36	
48.47	ethyl decanoate*	1647	1636	0.05	0.04	0.08	0.04	0.10	grape, rose

RT (min)	Compound name	RI exp.	RI lit.	Average GC peak area (10 ⁵ arbitrary unit)					Odors (from literature)
				WAT	PB121	MYD	EGD	THD	
51.01	Cis non-3-en-1-ol*	1694		0.10	0.14	0.11	0.07	0.10	fresh, waxy, green melon
53.26	alpha terpineol*	1731	1720	0.01	0.03	0.03	0.03	0.02	minty, anis
53.66	n.i.	1740		0.07	0.07	0.08	0.06	0.09	
54.14	n.i.	1748		0.19	0.20	0.34	0.31	0.20	
57.59	decan-1-ol	1815	1765	0.10	0.11	0.11	0.10	0.12	fruit, floral, fat
61.48	hexanoic acid*	1891	1872	0.88	0.57	0.52	0.23	1.12	rancid, hot, cheese, goat
62.94	benzyl alcohol	1928	1865	0.09	0.02	0.03	0.03	0.03	floral, sweet
64.40	2-phenylethanal*	1970	1939	0.02	0.05	0.02	0.03	0.02	perfumed, rose
65.82	2-phenylbut-2-enal*	2009		0.02	0.05	0.02	0.01	0.03	cocoa, floral, sweet, nut, earth
66.50	delta octalactone	2038		0.53	0.10	0.06	0.04	0.12	cream, coconut, minty
68.37	delta nonalactone	2110	2042	0.02	0.01	0.01	0.01	0.01	fruit,dairy,orchid
70.84	octanoic acid	2218	2083	2.03	0.56	0.76	0.29	0.87	acidic, fruity, soapy, sour, oil
71.81	nonanoic acid	2259	2202	0.08	0.29	0.10	0.11	0.21	cheese, dairy, fatty, waxy
72.30	delta decalactone	2288	2208	0.10	0.03	0.04	0.02	0.03	coconut-like, cream, peach note, butter
74.62	decanoic acid	2375	2361	0.06	0.10	0.09	0.06	0.05	fatty, rancid
75.34	n.i.	2428		0.02	0.05	0.05	0.05	0.03	

* identified for the first time; ND: not detected; tr: traces

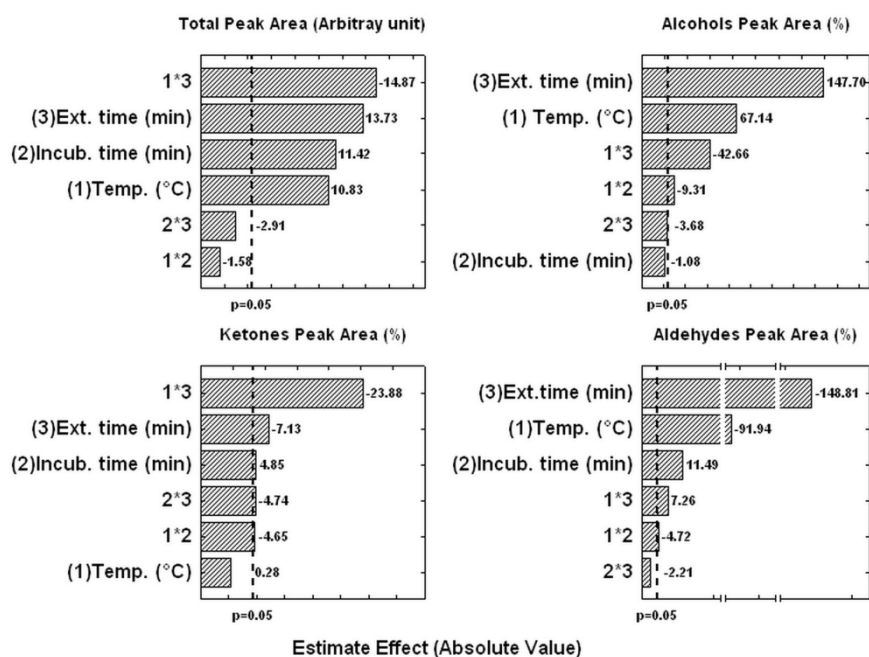


Figure 1. Pareto chart of standardized effects of the full factorial design for total GC peak area and peak area percentage of the alcohols, ketones, and aldehydes of immature coconut water extracted by HS-SPME. Ext. time = extraction time, Incub. time = incubation time and Temp. = temperature of incubation and extraction

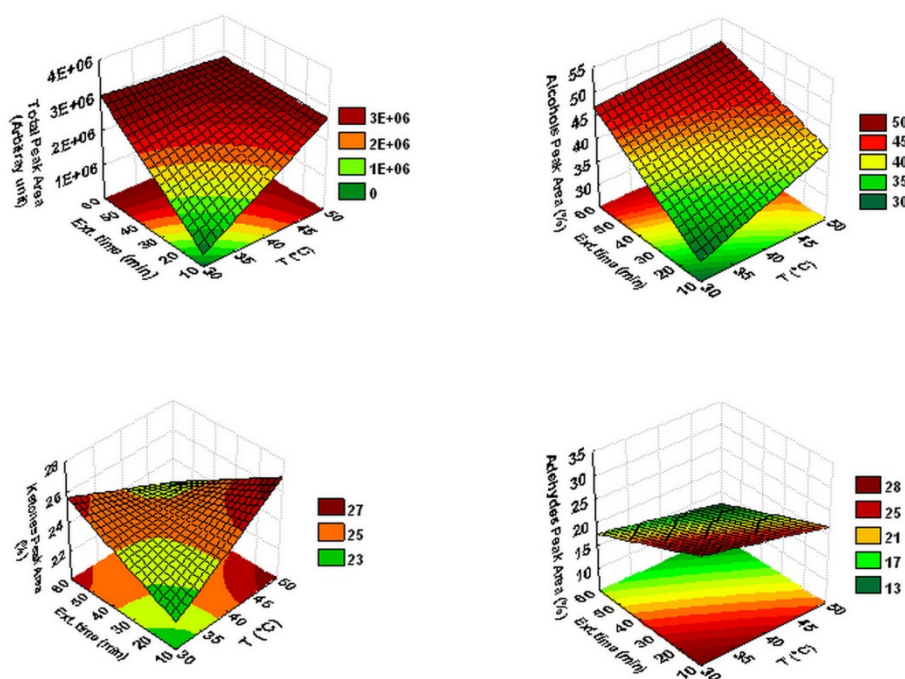


Figure 2. Response surface plots of the total GC peak area and peak area percentage of the alcohols, ketones, and aldehydes of immature coconut water extracted by HS-SPME. Incubation time was fixed at 10 min

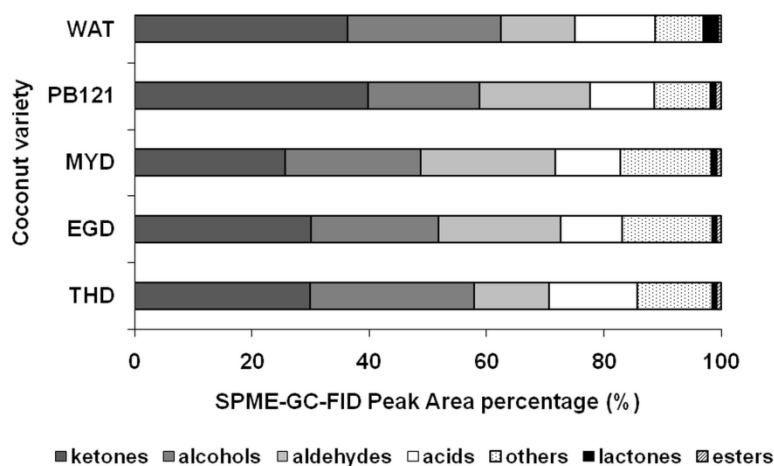


Figure 3. Comparison in the percentage of the GC peak area percentage of the various groups of molecules of the five coconut water varieties: WAT (West African Tall), PB121 (Hybrid MYDxWAT), MYD (Malayan Yellow Dwarf), EGD (Equatorial Guinea Green Dwarf), THD (Thailand Aromatic Green Dwarf)

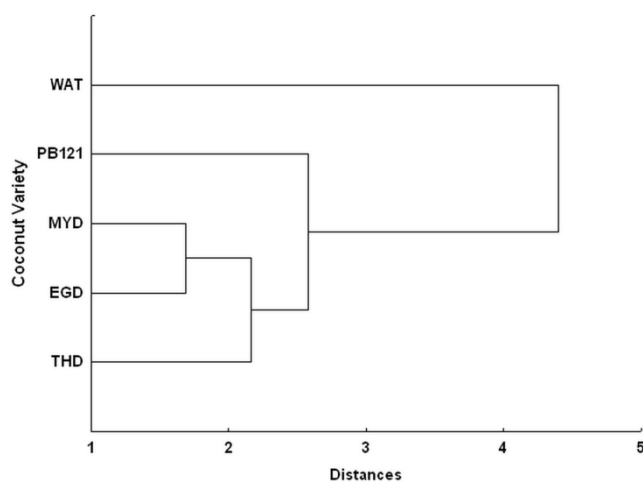


Figure 4. Dendrogram of the ascendant classification analysis of the SPME/GC-FID peak area of the 55 volatile compounds extracted from five coconut water varieties: WAT (West African Tall), PB121 (Hybrid MYDxWAT), MYD (Malayan Yellow Dwarf), EGD (Equatorial Guinea Green Dwarf), THD (Thailand Aromatic Green Dwarf)

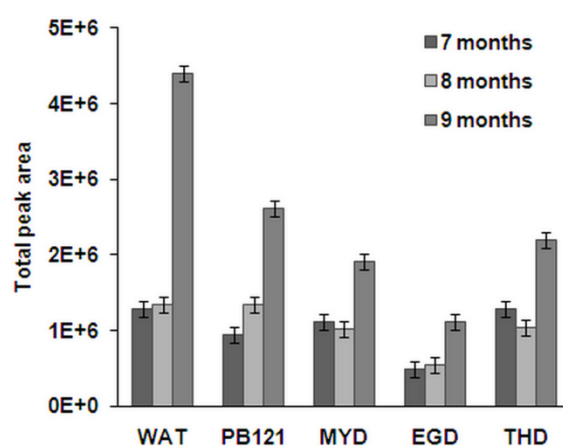


Figure 5. Total peak area of volatile compounds of coconut water samples of five different varieties: WAT (West African Tall), PB121 (Hybrid MYDxWAT), MYD (Malayan Yellow Dwarf), EGD (Equatorial Guinea Green Dwarf), THD (Thailand Aromatic Green Dwarf) at three stages of maturity: 7, 8, and 9 months. The error bars are the confidence limit at 95% (n=3)

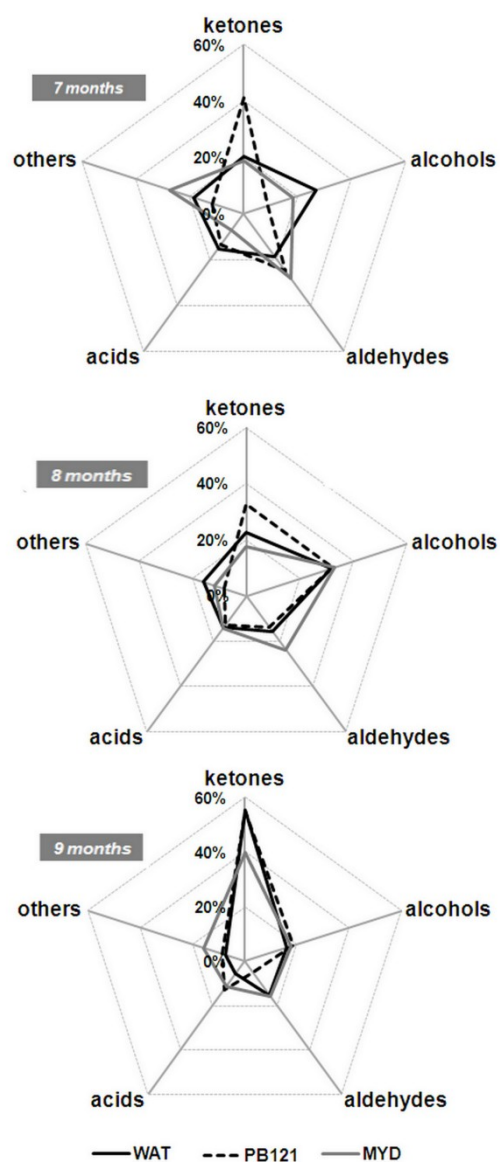


Figure 6. Evolution of the peak area percentage of the volatile compounds of the immature coconut water of three cultivars: WAT (West African Tall), PB121 (Hybrid MYDxWAT), MYD (Malayan Yellow Dwarf) at the stage of maturity of 7, 8 and 9 months

IV.1.4. - Construction d'un indice global de qualité

Sur la base des paramètres précédemment sélectionnés, un premier indice global de qualité (IGQ) a été construit de la façon suivante en s'inspirant d'une publication d'Achour, 2006 :

- Choix d'un seuil minimum acceptable L_i pour chacun des paramètres ou attributs de qualité i considérés (dans notre cas, le seuil minimal est considéré comme étant la moyenne de tous les résultats obtenus) ;
- Calcul du niveau Q_{ij} du paramètre i au stade j à l'aide de la formule suivante :

$$Q_{ij} = \frac{C_{ij} - L_i}{L_i}$$

avec C_{ij} la valeur mesurée du paramètre i au stade de récolte j ; L_i la valeur seuil minimum acceptable

- Attribution d'un poids arbitraire p_i à chacun des paramètres i dont la valeur est constante quel que soit le stade de récolte j et quelle que soit la variété considérée. Chaque poids p est compris entre 0 et 1 et la somme des p_i est égale à 1 ;
- Calcul de l'indice IGQ pour chaque stade et variété considéré tel que

$$IGQ_{ij} = \sum_{i=1}^n p_i \times Q_{ij}$$

avec n le nombre de paramètres mesurés, p_i le poids arbitraire attribué au paramètre i , Q_{ij} la valeur du paramètre i au stade de récolte j .

Dans un premier temps, les paramètres choisies sont au nombre de trois : le poids de l'eau, le pourcentage massique d'eau dans la noix et l'indice de saveur sucrée. Les valeurs de seuil choisies et le poids de chacun des paramètres sont présentés dans le tableau 6. Le choix des poids arbitraires a volontairement favorisé ici l'indice de saveur sucrée, ce qui sous-entend que les noix seraient transformées près de la cocoteraie et ne sont pas exportées, ni transportées sur de longues distances. Dans le cas où l'on souhaiterait exporter les noix entières pour la boisson ou les transporter pour les vendre en zone urbaine éloignée de la plantation, les poids des deux premiers paramètres devraient être rehaussés pour tenir compte de cette contrainte, qui peut avoir des conséquences économiques non négligeables.

Tableau 6. Seuil minimum acceptable et poids arbitraire attribués aux trois paramètres i servant à la construction de l'indice de qualité de l'eau de coco immature

	Poids de l'eau (kg)	Pourcentage massique d'eau par noix (%)	Indice de saveur sucrée
L_i	0,220	12	50,0
p_i	0,1	0,2	0,7

Ainsi, un indice global de qualité positif indique que les valeurs seuils sont dépassées et que le produit correspond donc aux critères minima d'acceptabilité. Un indice négatif entraîne le classement du produit dans une catégorie non conforme aux attentes du cahier des charges correspondant aux valeurs L_i . Les produits avec des valeurs d'IGQ négatives ne seront donc pas classés comme aptes à la transformation.

Le calcul de l'indice global de qualité pour nos cinq variétés (Figure 21) indique que seules les eaux de coco du PB121 récoltées à 7 mois, celles du NJM récoltées à 7 et 8 mois, celle du NVE quel que soit le stade de récolte et celle du NVT récoltée à 9 mois présentent un potentiel intéressant pour une transformation en boisson.

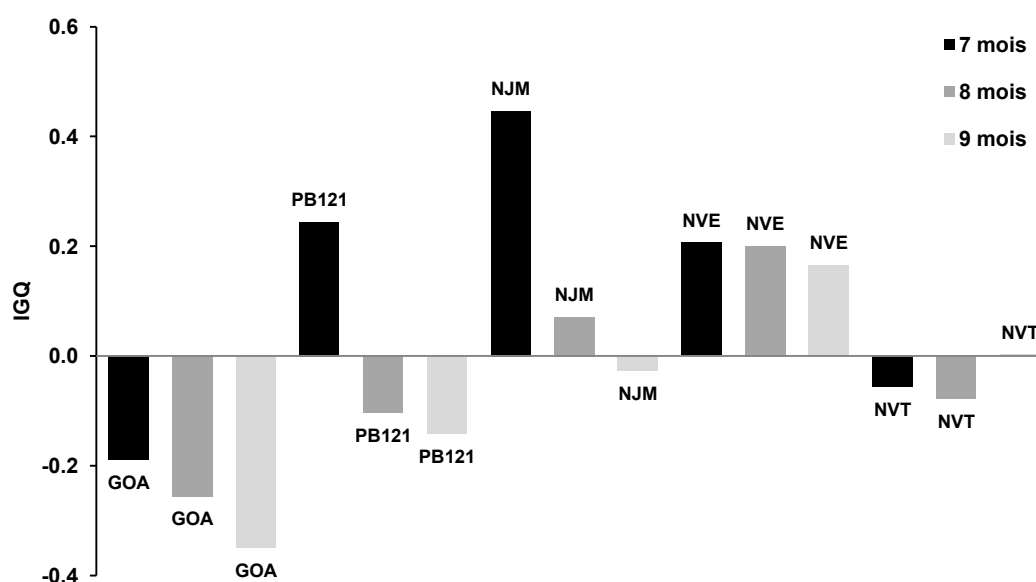


Figure 21. Evolution de l'indice global de qualité (IGQ) de l'eau de coco de cinq variétés de cocotiers (GOA, PB121, NJM, NVE et NVT) en fonction du stade de récolte. L'indice est basé sur la mesure de trois paramètres physico-chimiques

L'indice global de qualité peut également être enrichi, lorsque cela est possible, avec les paramètres de l'analyse du profil aromatique précédemment étudiés que sont les pourcentages des familles de composés volatils. Le tableau 7 indique les valeurs seuils L_i choisies et les poids donnés aux différentes familles de composés.

Tableau 7. Seuil minimum acceptable et poids arbitraire attribués aux cinq paramètres i servant à la construction de l'indice de qualité enrichi de l'eau de coco immature ; la catégorie de composés volatils « autres » regroupe les esters, les lactones et les molécules non identifiées

	Cétones (%)	Alcools (%)	Aldéhydes (%)	Acides (%)	Autres (%)
L_i	32	24	18	12	14
p_i	0,75	1	1,5	0,25	1,5

L'obtention de cet indice de qualité « enrichi » se fait en réalisant une combinaison linéaire du premier IGQ auquel on attribue un poids de 5 avec les paramètres supplémentaires de l'analyse des composés volatils. Ainsi, le nouvel indice change d'échelle (Figure 22) mais une valeur négative indique toujours un classement dans la catégorie « produit non conforme ».

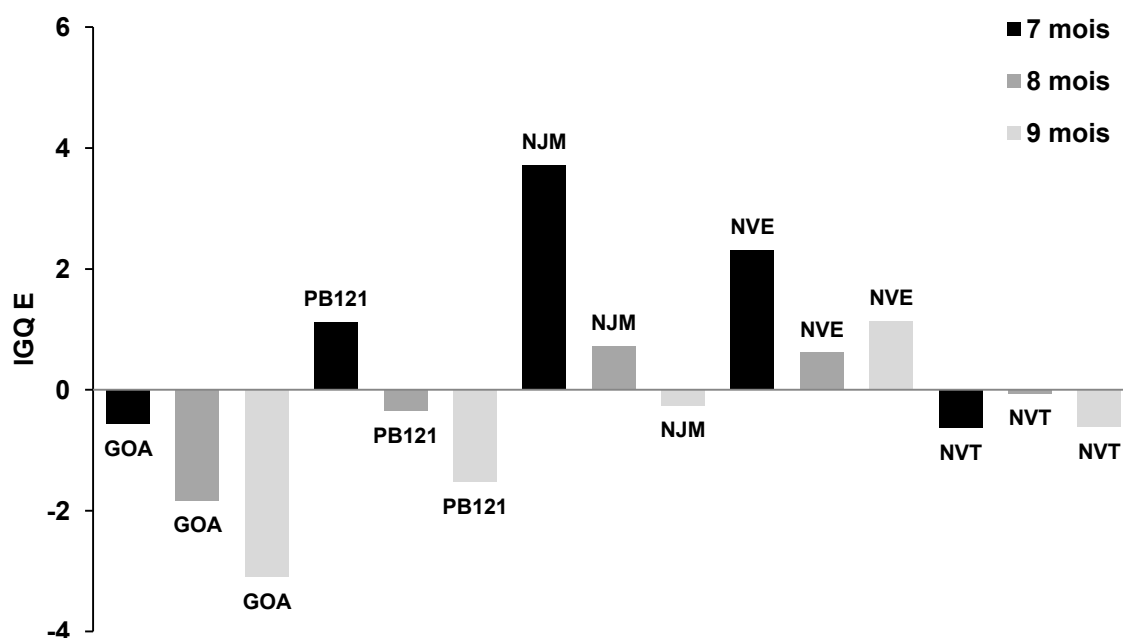


Figure 22. Evolution de l'indice global de qualité enrichi (IGQE) de l'eau de coco de cinq variétés de cocotiers (GOA, PB121, NJM, NVE et NVT) en fonction du stade de récolte.

L'indice est basé sur la mesure de huit paramètres physico-chimiques et intègre le profil aromatique.

Sur la base de ce nouvel indice, les mêmes variétés et stades de récolte sont identifiées comme ayant un potentiel intéressant pour une exploitation sous forme de boisson à base d'eau de coco. Toutefois, l'indice de l'eau du PB121 récolté à 7 mois, tout comme celui du NVE à 8 mois est comparativement plus faible que celui obtenu avec l'indice de qualité précédemment calculé. L'eau de coco de la variété NVT récoltée à 9 mois ne répond plus au cahier des charges du produit. Dans ce cas, l'apport des informations liées au profil aromatique a un impact négatif sur l'indice de qualité. L'eau de coco de la variété NJM récoltée à 7 mois conserve l'IGQ le plus élevé, suivie de l'eau de la variété NVE récoltée également à 7 mois.

IV.1.5. – Conclusion partielle et discussion de synthèse

Le choix et l'évaluation des procédés de stabilisation de l'eau de coco requièrent des connaissances sur les caractéristiques de la matière première qu'elles soient physico-chimiques, enzymatiques ou encore aromatiques. Cette première phase a donc été consacrée à l'étude de l'eau de coco de cinq variétés de cocotiers de Côte d'Ivoire récoltées à trois stades de maturité.

L'étude des paramètres physico-chimiques de l'eau de coco a montré que quelques critères permettent de distinguer les variétés de cocotier entre elles. La composition en sucres solubles et polyols de l'eau de coco, les poids de l'eau, le pourcentage d'eau dans la noix, l'activité de la peroxydase, les familles de composés volatils sont utiles à la description de la matière première. Ils sont fortement influencés par la variété et le stade de récolte et permettent de décrire et différencier les eaux de coco entre elles.

Dans un premier temps, un indice global de qualité (IGQ) a pu être construit à partir de trois paramètres : le poids de l'eau, le pourcentage d'eau dans la noix et l'indice de saveur sucrée. Cet indicateur global de qualité, basé sur un choix empirique de seuils de tolérance pour les paramètres recherchés, peut fournir une estimation du potentiel des variétés de cocotier pour la transformation en boisson. Selon les objectifs recherchés : export de noix entières, extraction de l'eau de coco sur zone de production ou boisson plus ou moins sucrée, une modification de la pondération des paramètres de l'indice permet de l'adapter aux objectifs visés pour le marché visé pour la boisson. L'indice global de qualité peut également prendre en compte les aspects aromatiques du produit si l'on dispose de l'équipement adéquat pour réaliser l'étude du profil aromatique sur l'eau de coco des variétés à évaluer. Cet indice intègre alors les valeurs des pourcentages des familles de composés aromatiques identifiés.

Son efficacité est alors améliorée par le fait qu'il prend en compte des aspects de caractérisation du produit de plus en plus fins dont certains pourraient être héréditaires et donc liés au génotype même de la variété. Il pourrait donc être utile, dans un premier temps, aux sélectionneurs et améliorateurs.

Toutefois, le lien entre les mesures objectives de la qualité de l'eau de coco et son appréciation par un panel de consommateur reste à construire. Ce lien est indispensable à la validation des indicateurs proposés. Relier un indice de saveur sucrée ou un pourcentage d'esters à un goût sucré ou un arôme floral grâce à l'analyse sensorielle permettra de confirmer la pertinence des paramètres sélectionnés pour la construction de l'indice global de qualité. La robustesse de l'IGQ devra également être testée en variant les zones géographiques et les périodes de récolte pour une même variété afin d'estimer l'impact des conditions édapho-climatiques sur sa mesure.

A partir de ces travaux, il semble déjà possible d'optimiser un stade de récolte et de choisir les variétés les mieux adaptées à la production d'eau de coco. Ainsi, des outils d'aide à la décision pour choisir les stades de récolte et conditions de stockage optimaux pourraient être construits sur la base des indicateurs présentés ici. Sans valider complètement l'indicateur global de qualité il est déjà possible de mieux cibler les critères de qualité à prendre en compte dans le cahier des charges de la matière première entrant dans l'opération de préparation d'une boisson à base d'eau de coco. Ainsi, parmi toutes les variétés étudiées, la variété Nain Jaune de Malaisie (NJM) récoltée à 7 mois a le meilleur indice global de qualité et serait donc la mieux adaptée pour une utilisation en noix « à boire ».

Après avoir étudié et fourni des outils pour aider les producteurs et transformateurs à mieux connaître et gérer leur matière première en vue d'une production de noix « à boire », nous allons maintenant nous intéresser au devenir de l'eau de coco après récolte. Ce produit recherché pour sa fonction désaltérante et son goût est extrêmement fragile. Il présente en effet un pH peu acide (5,5 à 6,5) et une composition en sucres idéale pour la croissance microbienne. De plus, l'eau de coco, limpide et claire après ouverture de la noix, prend parfois une coloration rose à brune, indésirable pour les consommateurs avertis. La deuxième phase de ce travail consiste en une étude des phénomènes de dégradation de l'eau de coco afin de mieux les comprendre et les maîtriser.

IV.2. - Etude de la dégradation de l'eau de coco à température ambiante tropicale

Cette étude a pour objectif de suivre les paramètres physico-chimiques de l'eau de coco conservée à 30°C en conditions non contrôlées afin d'observer les phénomènes responsables de la dégradation naturelle et spontanée du produit. En effet, en zone de production d'eau de coco, il n'est pas rare que le produit ne soit traité que dans les minutes, voire les heures qui suivent son extraction de la noix. La matière première subit alors un stockage intermédiaire durant lequel elle évolue. Ces essais préliminaires ont permis de mieux cerner les caractéristiques de cette évolution.

IV.2.1. - Évolution des propriétés de l'eau de coco conservée à température ambiante tropicale

IV.2.1.1.Évolution des paramètres physico-chimiques

Les résultats présentés ci-après concernent la première série d'essais. Les paramètres mesurés sur l'eau de coco au cours de sa conservation à 30°C ayant fait l'objet d'un suivi en ligne sont : la conductivité électrique, le pH et la concentration en oxygène dissous. Des échantillons ont été régulièrement prélevés pour analyser l'extrait sec soluble, l'acidité titrable, les activités enzymatiques des PPO et POD et réaliser des analyses microbiologiques (flore mésophile totale, levures et moisissures).

L'eau de coco de la variété NVE maintenue à 30°C pendant 48h, présente une légère augmentation de sa conductivité électrique de 0,57 à 0,67 S.m⁻¹. Celle-ci n'est pas significative. Il est en effet reconnu que ce paramètre physique est stable à température constante, ce qui est confirmé par nos observations. En revanche, le pH et l'extrait sec soluble (ESS) évoluent différemment au cours du temps (Figure 23).

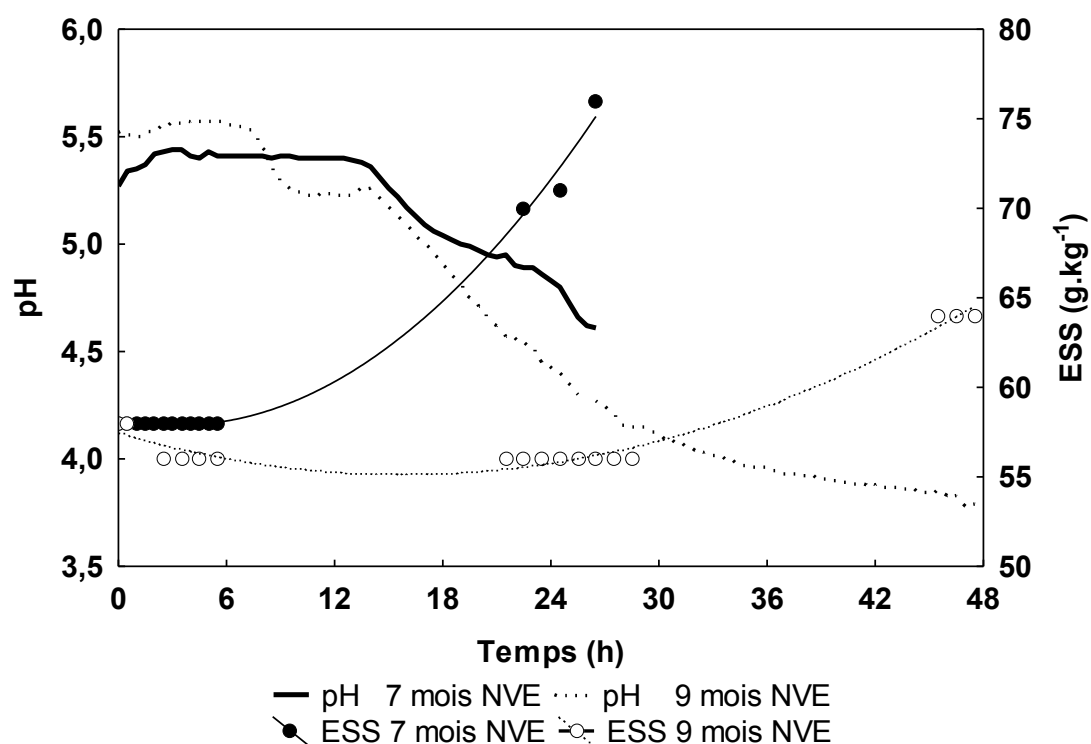


Figure 23. Évolution du pH et de l'extrait sec soluble de l'eau de coco de la variété NVE récoltée à 7 et 9 mois au cours d'une conservation en conditions contrôlées : mode aérobie isotherme à 30°C

L'évolution du pH montre deux baisses successives dans l'eau de la variété NVE : une première entre 7 et 9 heures (5,6 à 5,2) et une seconde entre 15 et 48 heures (5,2 à 3,9). Au bout de 48h, le pH final de l'eau de coco récoltée à 9 mois est de 3,9. Dans le même laps de temps, l'ESS augmente à partir de 6 heures pour l'eau des noix de 7 mois et seulement de 27 heures pour l'eau des noix récoltées à 9 mois.

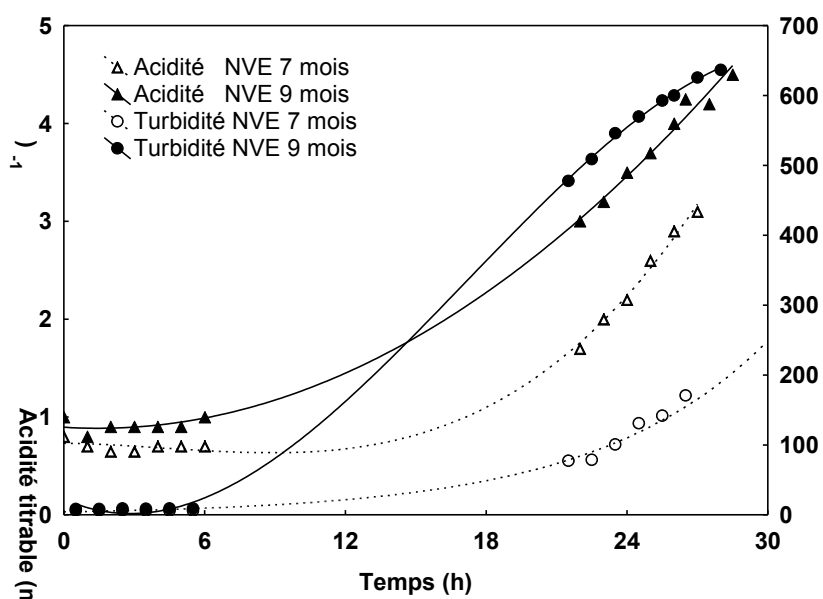


Figure 24. Évolution de l'acidité titrable et de la turbidité de l'eau de coco de la variété NVE en fonction du temps de conservation en conditions aérobie isotherme (30°C) et du stade de maturité à la récolte (7 et 9 mois)

Les évolutions de la turbidité et de l'acidité titrable des eaux de coco récoltées aux stades 7 et 9 mois montrent une nette corrélation entre ces deux paramètres (Figure 24). La turbidité et l'acidité titrable de l'eau récoltée à 7 mois augmentent respectivement à partir de 8 et 11 heures de stockage à 30°C. De même lorsque la turbidité de l'eau de coco récoltée à 9 mois augmente à partir de 5 heures de conservation à 30°C, son acidité titrable croît une heure après. Dans les deux cas, le début de l'augmentation de l'acidité titrable précède de deux heures la baisse du pH et anticipe de 1 à 3 heures l'augmentation de la turbidité.

Ces observations préliminaires simples prouvent que l'eau de coco, comme attendu, est altérée par la présence de microorganismes qui utilisent les substrats présents : sorbitol, glucose, fructose et saccharose pour croître et se multiplier. L'eau de coco subit donc une fermentation spontanée en aérobiose. Cette fermentation se déroule en plusieurs phases (Figures 25 et 26).

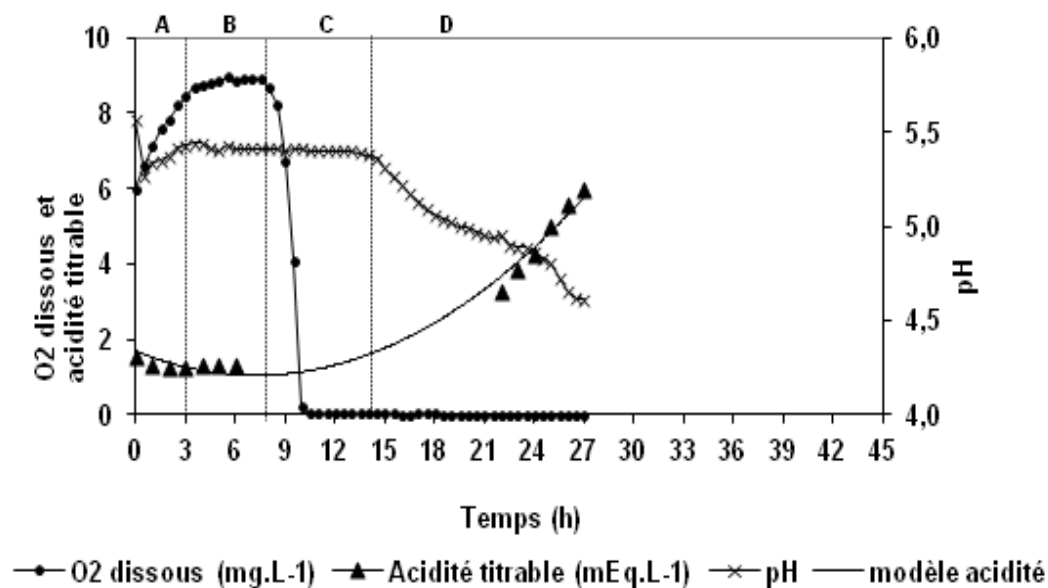


Figure 25. Évolution de la teneur en oxygène dissous, de l'acidité titrable et du pH de l'eau de coco de la variété NVE récoltée à 7 mois, placée en conditions de conservation aérobie isotherme (30°C)

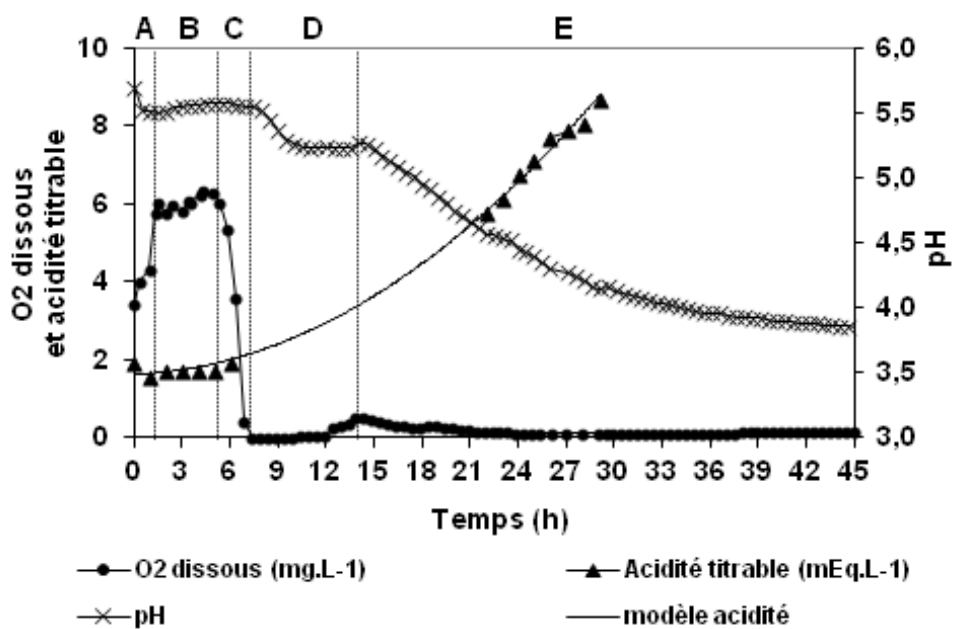


Figure 26. Évolution de la teneur en oxygène dissous, de l'acidité titrable et du pH de l'eau de coco de la variété NVE récoltée à 9 mois, placée en conditions de conservation aérobie isotherme (30°C)

Pour les deux stades de récolte 7 et 9 mois, l'évolution des paramètres physicochimiques de l'eau de coco peut être découpée en cinq phases :

- une phase A (0-3h à 7 mois ou 0-2h à 9 mois) durant laquelle la teneur en oxygène dissous augmente, l'acidité titrable et le pH diminuent ;
- une phase B (3-8h à 7 mois et 2-5h à 9 mois) qui correspond à un palier ou phase de latence. Les paramètres étudiés ne varient pas ;
- une phase C (8-15h à 7 mois et 5-8h à 9 mois) durant laquelle on observe la chute brutale de la teneur en oxygène dissous et l'amorce de l'augmentation de l'acidité titrable alors que le pH reste stable ;
- une phase D (15-27h à 7 mois et 8-14h à 9 mois) correspondant à la diminution du pH et à l'augmentation exponentielle de l'acidité titrable alors qu'il n'y a plus d'oxygène dissous dans le milieu ;
- une dernière phase E (24-27h à 7 mois et 14-45h à 9 mois) durant laquelle le pH chute encore alors que l'acidité titrable continue de croître.

IV.2.1.2. Évolution des paramètres microbiologiques

Suite à ces observations, l'hypothèse d'une fermentation spontanée issue de deux populations bactériennes différentes peut être posée étant donné les paliers observés sur le pH. Une hypothèse alternative serait que la même population microbienne change de métabolisme afin de s'adapter aux contraintes du milieu. Les résultats des analyses microbiologiques ont montré que ces baisses de pH provenaient bien d'une croissance bactérienne et non pas d'un développement de levures (Figure 27).

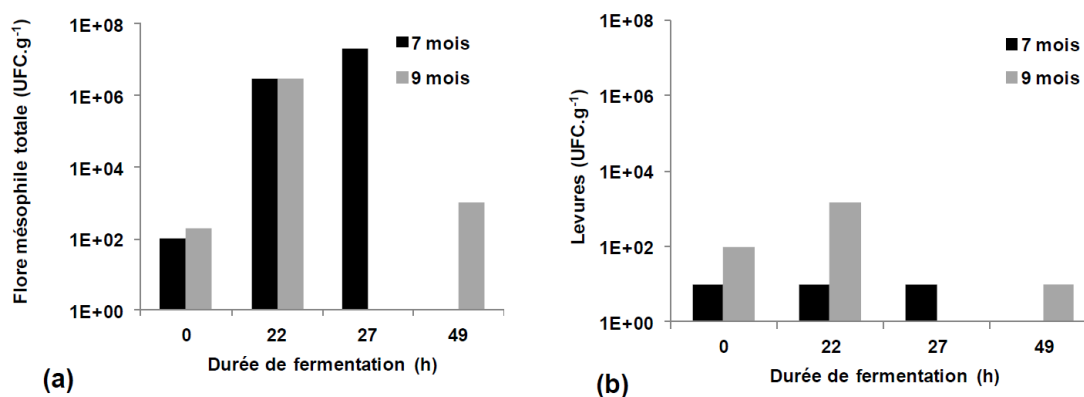


Figure 27. Résultats des analyses de (a) flore mésophile totale et (b) levures des prélèvements d'eau de coco de la variété NVE récoltée aux stades de 7 et 9 mois, effectuées à 0, 22, 27 et 49 heures de fermentation spontanée

Le niveau de contamination liée aux moisissures de 10 UFC.g⁻¹ s'est révélé être identique pour l'eau de coco récoltée aux deux stades et n'a pas évolué durant toute la durée des essais. Les bactéries n'ont pas été identifiées. Il pourrait néanmoins s'agir d'une bactérie de type *Acetobacter*. Cette bactérie croît en effet très facilement et spontanément sur l'eau de coco en aérobiose. Elle forme un gel à la surface de l'eau de coco après quelques jours de stockage en conditions tropicales (Alaban, 1962). *Acetobacter xylinum* a été identifiée comme la principale souche capable de se développer sur l'eau de coco et de produire le «nata de coco», gel de cellulose pure utilisé aux Philippines dans l'alimentation traditionnelle (De Gallardo *et al.*, 1971). La bactérie consomme les sucres présents dans l'eau de coco, plus particulièrement le glucose, pour fabriquer de la cellulose (Budhiono *et al.*, 1999). Elle a également, comme toutes les bactéries du genre *Acetobacter*, la capacité de transformer l'éthanol en acide acétique.

Les phases précédemment observées et décrites peuvent ainsi être expliquées par les phases de croissance classiques rencontrées chez la plupart des microorganismes aérobies stricts. Les deux premières phases A-B présentent une concentration élevée en oxygène dissous et une concentration en sucres plutôt faible (l'eau de coco ne contient que 50 à 60 g.L⁻¹) ce qui favorise la voie catabolique respiratoire et conduit à la consommation de l'oxygène dissous, à la formation d'acides dans le milieu et à la diminution du pH. En l'absence d'oxygène et lorsque le pH est suffisamment bas (phases C-D), la voie catabolique fermentaire des microorganismes devient prépondérante et il y a alors utilisation des sucres pour la production d'alcool, le plus souvent sous la forme d'éthanol ; éthanol qui pourra être

ensuite consommé par *Acetobacter xylinum* pour la production d'acide acétique. Si les conditions sont favorables (pH compris entre 4 et 5 et réserves de glucose dans le milieu), la production de cellulose sera privilégiée par la bactérie et l'on verra apparaître, au bout de 3 à 4 jours, le gel de cellulose à la surface de l'eau de coco.

IV.2.1.3. - Évolution des activités enzymatiques

Dans un premier temps, seule l'activité des polyphénoloxydases a fait l'objet d'un suivi sur l'eau de coco de la variété NVE. Les évolutions de l'activité résiduelle des PPO (Figure 28) montrent des variations similaires pour les eaux récoltées à 7 mois et celles récoltées à 9 mois entre 0 et 23 heures. Ces variations conduisent à une perte globale d'activité de 60%. Au-delà, l'activité PPO de l'eau récoltée à 9 mois chute et devient nulle alors que celle de l'eau récoltée à 7 mois se maintient autour de 10 U.mL^{-1} , soit 50% environ de l'activité initiale. Cette différence s'explique par un changement de conditions du milieu dans lequel évoluent les enzymes. Le pH de l'eau de coco de NVE récoltée à 9 mois devient en effet inférieur à 4,5 après 22 heures de conservation à 30°C .

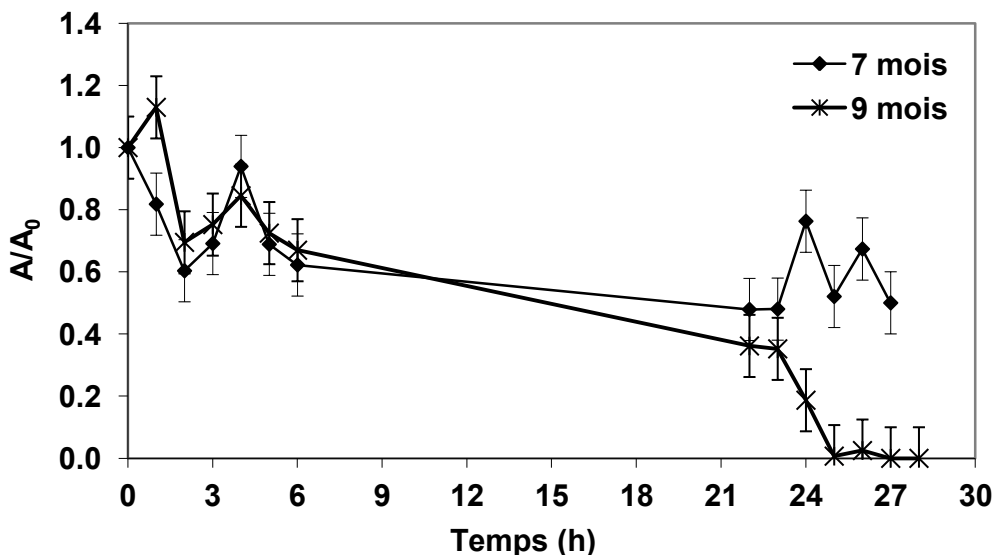


Figure 28. Évolution de l'activité résiduelle des polyphénoloxydases dans l'eau de coco de la variété NVE récoltée à 7 et 9 mois et conservée à 30°C en mode aérobie

Il est à noter que l'activité des PPO de l'eau de coco de la variété NVE n'est pas très élevée et que son évolution ne semble pas influencée par la teneur en oxygène dissous du milieu. En effet, bien que le niveau de concentration en oxygène dissous de l'eau de coco

récoltée à 7 mois soit en moyenne 1,5 fois celui de l'eau de coco récoltée à 9 mois, les activités enzymatiques de type PPO restent d'un niveau équivalent et évoluent de façon identique entre 0 et 22h. De plus, il subsiste encore 40% d'activité résiduelle des PPO alors que la teneur en oxygène dissous mesurée dans l'eau de coco est nulle. La teneur en oxygène dissous ne semble donc pas limitante dans ce cas.

IV.2.2. - Influence de la variété et du stade de récolte sur l'évolution des propriétés de l'eau de coco conservée à température ambiante tropicale

Des essais de conservation de l'eau de coco de cinq variétés de cocotier récoltées à trois stades de maturité sur la collection du CNRA en Côte d'Ivoire : GOA, PB121, NJM, NVE et NVT ont été menés dans les mêmes conditions que précédemment : 30°C en aérobiose pendant 24 heures. Certains de ces essais n'ont pas pu être menés dans de bonnes conditions (noix altérées ou trop peu d'eau dans la noix à leur arrivée en France). C'est pour cette raison que les figures présentées dans cette partie sont parfois incomplètes. Nous avons toutefois pu travailler sur les trois stades de récolte pour au moins deux des variétés (NJM et NVT). L'objectif de ces essais était d'étudier l'influence de la variété et du stade de récolte sur la durée de conservation de l'eau de coco à 30°C.

Il a été démontré dans l'étude précédente que les paramètres les plus représentatifs de l'évolution de la qualité de l'eau de coco dans les premières heures de conservation sont la teneur en oxygène dissous et le pH. La figure 29 présente l'évolution de ces deux paramètres dans les eaux de coco des cinq variétés récoltées aux stades de maturité de 7, 8 et 9 mois. Ces résultats montrent que, quelle que soit la variété ou le stade de récolte, l'eau de coco subit toujours le même phénomène de dégradation. Les cinq phases précédemment décrites sur la variété NVE sont également identifiées sur les cinq variétés du lot EVM :

- phase A : la concentration en oxygène dissous augmente, le milieu s'équilibre ;
- phase B : phase de latence ;
- phase C : chute brutale de la concentration en oxygène dissous et pH toujours stable ;
- phase D : première diminution du pH pour atteindre un premier palier ;
- phase E : deuxième diminution du pH pour atteindre un second palier.

Cependant, la phase B, au cours de laquelle la concentration en oxygène dissous est maximale et reste stable, n'est pas toujours présente. Elle semble être dépendante du stade de maturité et serait plutôt observée au stade de récolte de 7 mois. A ce stade, on observe en effet une particularité de l'eau de coco de la variété PB121 dont la phase B est anormalement

longue (14 heures au lieu de 2 heures en moyenne) par rapport aux autres variétés. Il ne s'agit pas ici d'une erreur de mesure puisque le pH de l'eau du PB121 ne varie pas non plus et chute très faiblement de 4,80 à 4,70 entre 16 et 18 heures de conservation à 30°C. Tous les autres paramètres restent constants pendant cette période. Si l'on compare la composition de cette eau de coco à celle des autres variétés à t_0 , les seules différences observées sont :

- une absence totale de sorbitol alors que les eaux des variétés naines en contiennent des traces et que l'eau du cocotier grand en possède des quantités non négligeables ;
- une teneur en saccharose faible par rapport aux cinq variétés étudiées à ce stade (3,4 g.L⁻¹ contre 6 à 9 g.L⁻¹ pour les autres variétés) ;
- une activité POD inexistante (0,7 U.mL⁻¹).

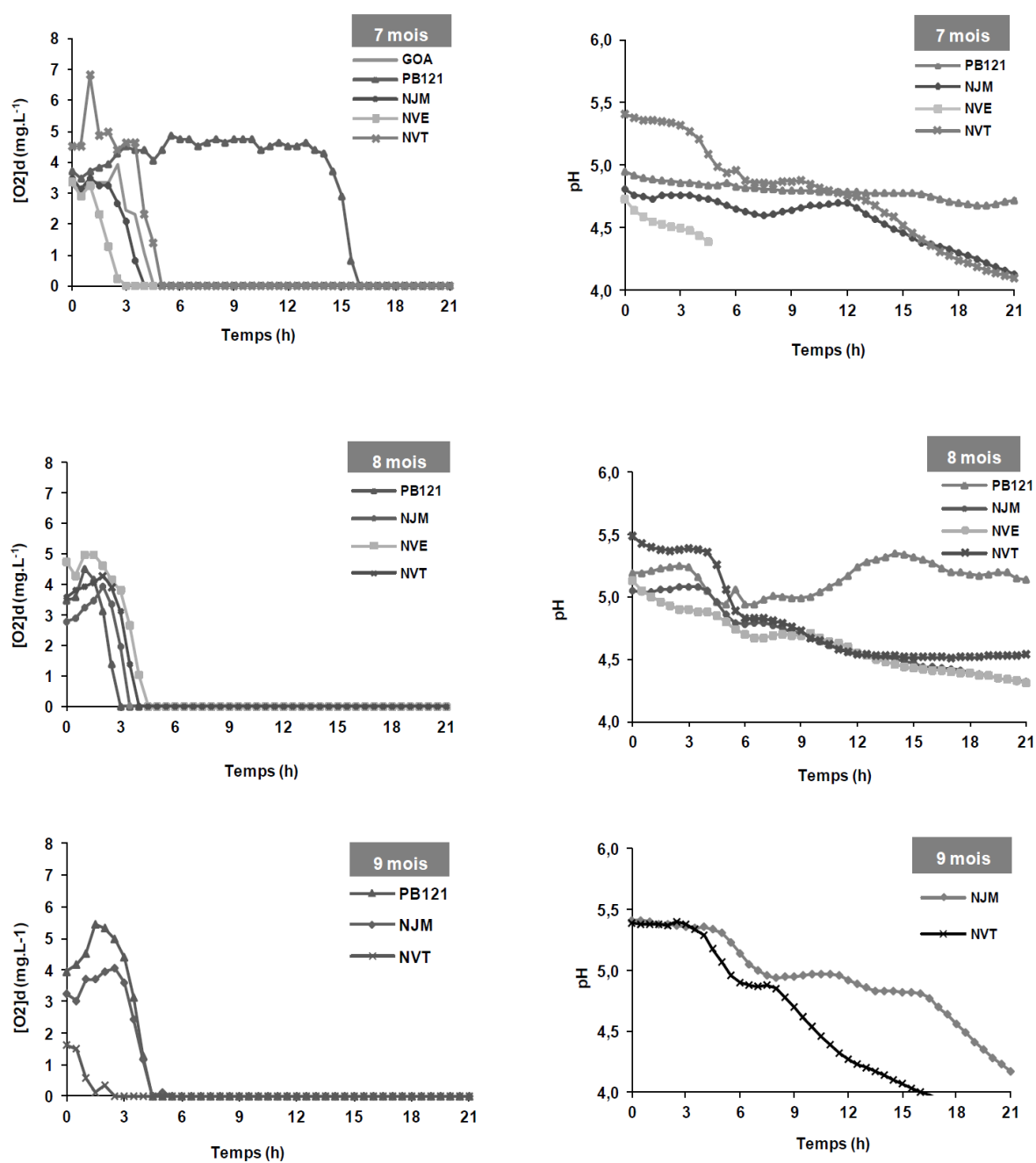


Figure 29. Évolution de la concentration en oxygène dissous et du pH de l'eau de coco des noix de cinq variétés de cocotiers GOA, PB121, NJM, NVE et NVT récoltées à 7, 8 et 9 mois et conservée pendant 21h à 30°C

Une explication de cette différence de comportement de l'eau de coco de la variété PB121 récoltée à 7 mois pourrait être liée aux propriétés de stimulation de la croissance microbienne du sorbitol (Patriarca *et al.*, 2011). Si l'on fait l'hypothèse que la famille de microorganismes qui se développent spontanément sur l'eau de coco sont des bactéries acétiques, il se peut que parmi les souches présentes, se trouvent des *Gluconobacter* ou *Acetobacter suboxydans* dont la particularité est d'oxyder le sorbitol en L-sorbose (Bosnjak *et al.*, 1991 ; Deppenmeier *et al.*, 2002). Ces bactéries peuvent se développer sur des milieux limités en azote et en sucres, ce qui est notre cas. Malgré ces conditions limitantes, elles gardent une forte capacité d'oxydation pour une faible production de biomasse. Etant donnée la préférence de ces bactéries pour le substrat sorbitol, une absence totale de sorbitol serait peut-être un frein à leur développement et expliquerait la longue phase de latence observée sur l'eau de la variété PB121. Une seconde explication à ce comportement atypique serait la présence dans l'eau de coco de facteurs inhibiteurs de la croissance bactérienne comme d'autres types de polyols (Soderling *et al.*, 2008). Il serait toutefois intéressant de poursuivre les recherches dans cette direction pour s'assurer que le phénomène observé n'est pas un artefact et se produit également sur d'autres périodes de récolte, d'autres arbres, d'autres parcelles. Si le phénomène s'avère reproductible, les réponses à ce comportement pourraient fournir des clés pour maîtriser la conservation de l'eau de coco à température ambiante.

Les eaux de coco issues des quatre autres variétés et celle du PB121 aux stades 8 et 9 mois évoluent de façon similaire. Le point commun à toutes les eaux de coco est la diminution soudaine de la concentration en oxygène dissous, indiquant un phénomène de même nature pour chacune des variétés sans que ces eaux aient étéensemencées par une même souche de microorganisme. La vitesse de consommation de l'oxygène du milieu est en effet identique pour toutes les variétés à un stade donné et est indépendante de la teneur en oxygène dissous initiale. Elle est de $1,6 \pm 0,2 \text{ mg.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$ pour les eaux récoltées à 7 mois, $2,3 \pm 0,3 \text{ mg.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$ pour les eaux récoltées à 8 mois et de $2,0 \pm 0,2 \text{ mg.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$ pour celles récoltées à 9 mois. Quels que soient le stade récolte ou la variété, la totalité de l'oxygène dissous dans l'eau de coco est consommée au bout de 3 à 5 heures de conservation à 30°C.

En ce qui concerne le pH, les mêmes évolutions sont observées sur les variétés naines pour lesquelles il chute à deux ou trois reprises durant les 24 heures de conservation à 30°C. Ceci confirme les hypothèses émises lors de la précédente étude. Un changement de métabolisme chez les bactéries ou un changement de population bactérienne interviendrait suite à l'atteinte d'un premier palier de pH vers 4,7 et au passage du milieu en anaérobiose.

IV.2.3. - Conclusion partielle et discussion de synthèse

En conclusion de cette étude sur les cinq eaux de coco de Côte d'Ivoire, il apparaît que la variété, contrairement au stade de récolte, n'a pas d'influence sur la vitesse de consommation de l'oxygène dissous dans le milieu. Celle-ci est plus élevée aux stades de récolte de 8 et 9 mois. A 30°C, la consommation de l'oxygène dissous par les bactéries contaminant le milieu est très rapide et s'effectue dans les trois premières heures après ouverture de la noix et extraction de l'eau de coco. Seule la variété PB121 récoltée à 7 mois présente une phase de latence plus importante que les autres. Ce comportement n'a pu être clairement élucidé mais des hypothèses ont été formulées, notamment celle de l'absence totale de sorbitol qui pourrait être un facteur limitant la croissance des bactéries dont l'écologie habituelle est l'eau de coco.

Quel que soit le stade de récolte de la noix, le premier des paramètres dont la variation signale un changement de qualité du produit est la teneur en oxygène dissous. Avant l'augmentation de l'acidité titrable et avant la diminution du pH, l'amorce de la chute brutale de la teneur en oxygène dissous signale la présence d'une population bactérienne déjà bien en place qui, en 1 heure de temps, épuise totalement le milieu en oxygène. Lorsque nous observons cette chute de teneur en oxygène dissous, il est déjà trop tard pour le produit qui a sans doute subi des modifications irréversibles. C'est la raison pour laquelle la technologie de suivi par empreinte globale en spectrométrie proche infrarouge a été testée lors de ces essais. La spectrométrie proche infrarouge permet de prédire, après calibration, le pH, la teneur en extrait sec soluble, les teneurs en sucres solubles ou encore les teneurs en acides organiques de jus de fruits (Tewari *et al.*, 2003 ; Cen *et al.*, 2006 ; Cen *et al.*, 2007).

IV.2.4. - Suivi des paramètres de dégradation par Spectrométrie Proche InfraRouge

L'étude du suivi par spectrophotométrie en proche infrarouge (SPIR) de la conservation à température ambiante tropicale de l'eau de coco de la variété Nain Vert de Guinée Equatoriale aux stades de récolte de 7 et 9 mois a fait l'objet de la présentation d'un poster à « ICEF 10 - International Congress of Engineering and Food » qui s'est tenu du 20 au 24 avril 2008 à Viña del Mar au Chili. Le résumé du poster est présenté ci-dessous. Le poster se trouve en annexe 3.

Résumé du poster

**Near Infrared Spectroscopy: a tool for on-line monitoring
of beverage quality**

Prades Alexia¹, Assa Rebecca Rachel², Dornier Manuel¹, Pain Jean-Pierre³

¹CIRAD, UMR Qualisud, 73 rue JF Breton, Montpellier, F-34398 France

²CNRA, Programme Cocotier, 07 BP 13 Abidjan 07, Côte d'Ivoire

³UM2, UMR Qualisud, Place E. Bataillon, Montpellier, F-34095 France

Coconut water (CW) is a tropical drink known for its refreshing and isotonic properties. It is a fragile liquid subjected to rapid deterioration. As a consequence, assessing its quality during processing and storage still remains a challenge. Among other food quality control methods, Near Infrared Spectroscopy (NIRS), a simple and non destructive analytical tool, should be a good challenger.

The aim was to investigate the ability of a NIRS portable device to assess on-line CW postharvest quality.

Immature coconut fruits (Guinea Equatorial Green Dwarf variety from Côte d'Ivoire) were harvested at two grades of maturity (7 and 9 months old). Aseptically collected CW was homogenised and stored in a 2 litres glass reactor. The liquid temperature was maintained at $30\pm0.5^{\circ}\text{C}$ using a double jacket water circulation. Temperature, electrical conductivity, pH and dissolved O_2 were on-line recorded every 30 minutes during 27 and 48 hours (7 and 9 months old nuts respectively). NIRS spectra were continuously acquired with a LabSpec[®]Pro spectrophotometer. Soluble solids, titrable acidity (TA), turbidity and polyphenoloxidase activity were measured every 30 min. Microbiological analyses were regularly done between initial and final time. Data processing was performed using descriptive statistics and principal component analysis (PCA).

The monitoring of physico-chemical parameters showed that CW deterioration encountered four stages for both grades of maturity: (i) a first stage where dissolved O_2 increased by 3 mg l^{-1} whereas pH and TA showed a slight decrease, (ii) a second stable stage, (iii) a third stage where dissolved O_2 fall down to 0 mg l^{-1} whereas TA raised, (iv) a fourth stage where pH and TA showed clear antagonistic trends. The same four stages were highlighted by PCA performed on NIRS spectral data. The latter identified an additional phase during stage 2, suggesting that NIRS was more sensitive than physico-chemical monitoring. Microbiological analyses confirmed the sterility of CW at initial time and later

showed the prevalence of bacteria (over yeasts and moulds). The potential of NIRS for on-line monitoring of coconut water quality was demonstrated.

NIRS could be considered as a high sensitive engineering tool for on-line monitoring of beverage quality.

IV.2.5. - Résultats complémentaires

IV.2.5.1. - Évolution des données physico-chimiques de l'eau de coco conservée à température ambiante tropicale lors de l'étude SPIR

Noix récoltées à 7 mois

L'analyse en composante principale des données physico-chimiques du suivi de l'eau de coco de la variété NVE récoltée à 7 mois (Figure 30) montre deux sous-ensembles d'échantillons : 0 à 9h et 9 à 21h et un échantillon présentant des caractéristiques de transition entre les deux ensembles. L'axe 1, qui représente 45% de la variance totale, est corrélé aux variables conductivité électrique, teneur en oxygène dissous et pH. L'axe 2, 39% de la variance totale, est corrélé à l'acidité titrable. L'axe 3 (non représenté), 15% de la variance totale, est corrélé à l'activité des PPO et à la turbidité.

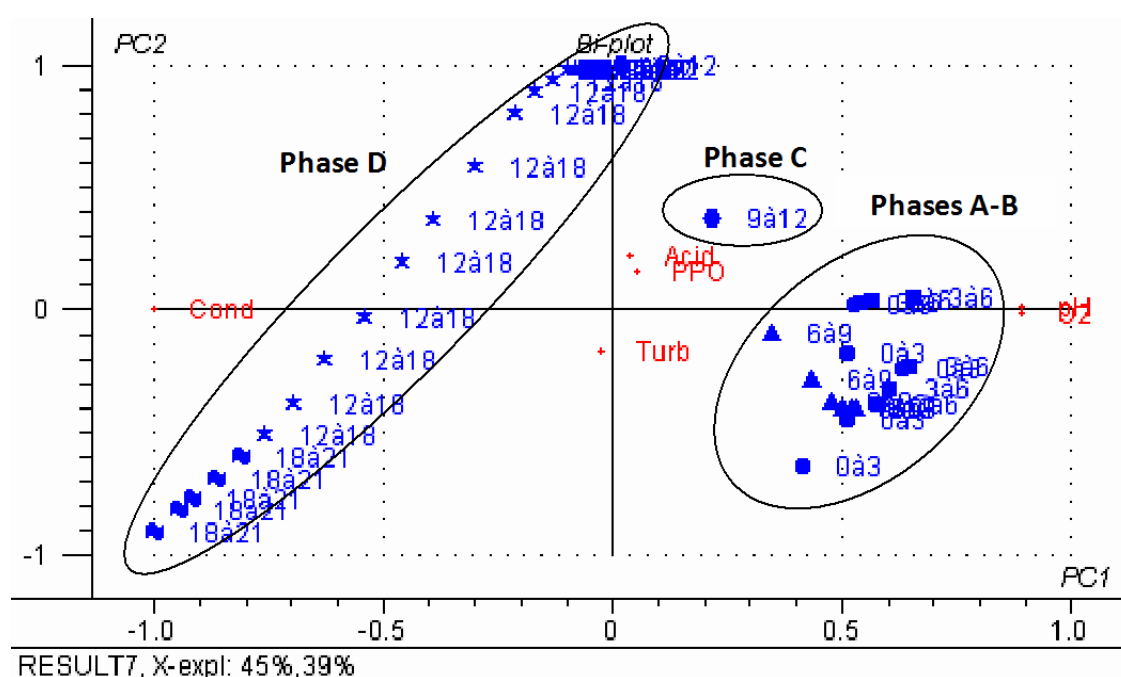


Figure 30. ACP des données physico-chimiques du suivi de dégradation en conditions isothermes et aérobies (30°C), de l'eau de coco de la variété NVE récoltée à 7 mois entre 0 et 21h. Projection des variables et des individus sur les deux premières composantes principales (biplot)

Noix récoltées à 9 mois

De même, une analyse en composantes principales des sept paramètres physicochimiques de suivi de dégradation de l'eau de coco récoltée à 9 mois entre 0 et 49 heures (Figure 31) montre que 98% de la variance totale des données est expliquée par les trois premières composantes. L'axe 1 (80% de la variance totale) sépare les analyses du jour 1 (J1) de celles des jours 2 et 3 (J2-J3). Cet axe est corrélé à l'acidité titrable et à la turbidité. L'axe 2 (16% de la variance totale) sépare les analyses de J2 et J3. Il est corrélé à l'ESS (intitulé Brix sur la figure 31) et moyennement corrélé à l'activité des PPO. Les échantillons de J1 sont caractérisés par un pH, une activité PPO et des teneurs en oxygène dissous plus élevés alors que ceux de J2 ont une acidité et une turbidité élevées. Enfin, les échantillons analysés à J3 sont caractérisés par un ESS et une conductivité électrique plus élevés.

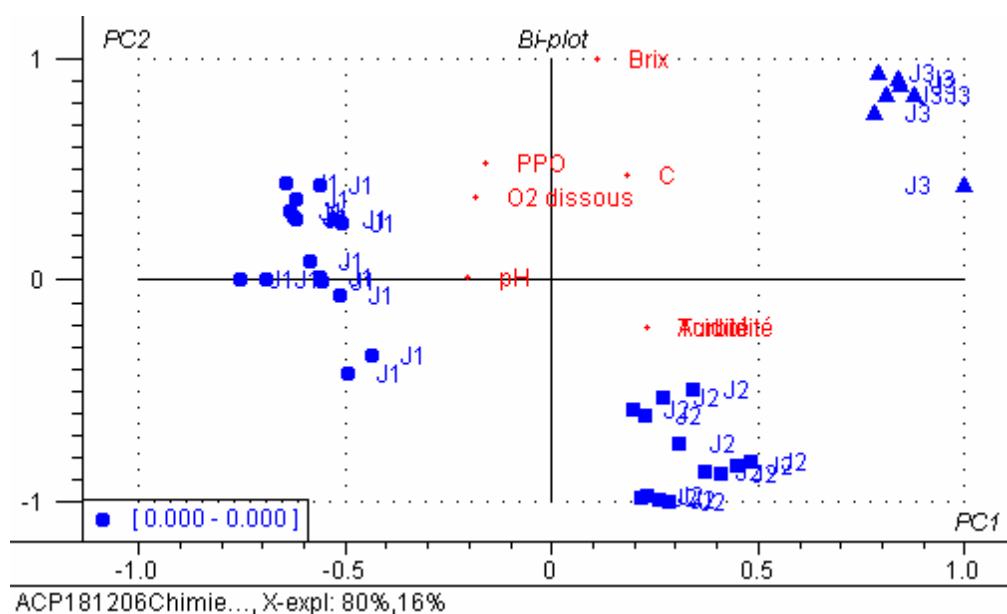


Figure 31. ACP des données physico-chimiques du suivi de dégradation en conditions isothermes et aérobies (30°C) de l'eau de coco de la variété NVE récoltée à 9 mois. Projection des variables et des individus sur les deux premières composantes principales (biplot)

Une ACP restreinte menée sur les données de J1 (Figure 32) montre que les échantillons de cette série se divisent en deux sous-ensembles : 0 à 6h et 6 à 21h avec une phase de transition rapide (1 échantillon) entre 6 et 9h. La première composante principale (40% de la variance totale) permet de séparer ces deux sous-ensembles. Elle est corrélée aux variables conductivité électrique, pH et teneur en oxygène dissous.

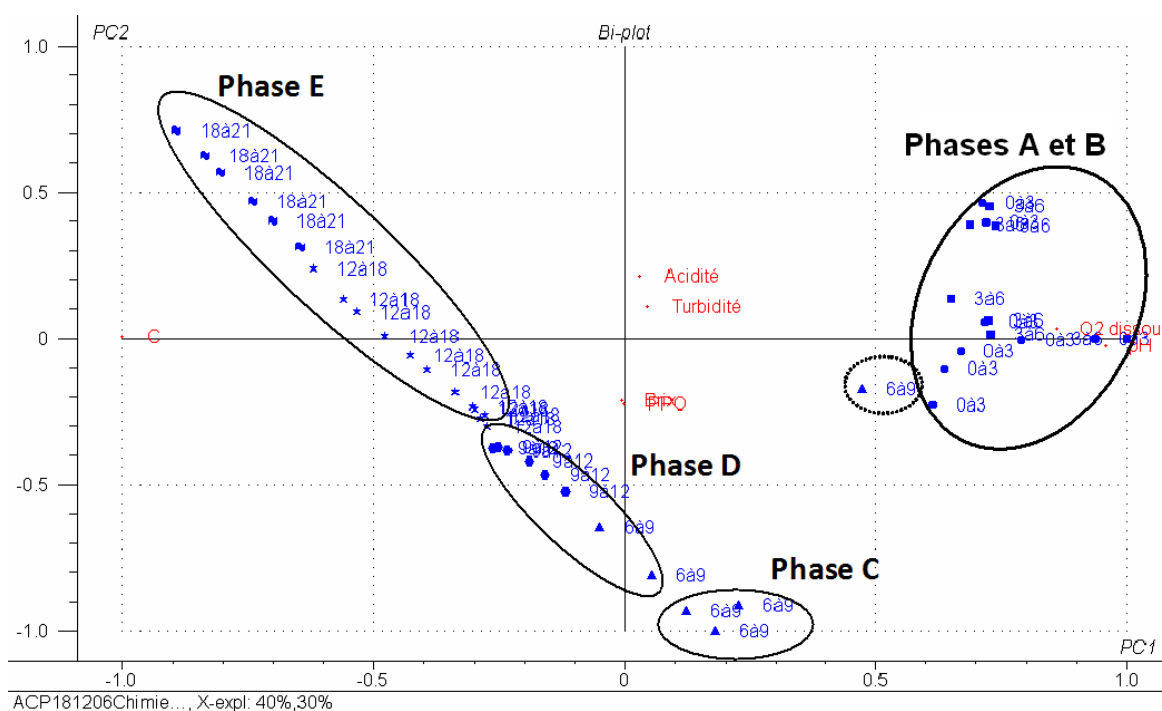


Figure 32. ACP des données physico-chimiques du suivi de dégradation en conditions isothermes et aérobies (30°C) de l'eau de coco de la variété NVE récoltée à 9 mois entre 0 et 21h (données J1). Projection des variables et des individus sur les deux premières composantes principales

La deuxième composante, qui explique 30% de la variance totale, est corrélée aux variables activité des PPO et acidité titrable. Les échantillons se répartissent selon l'axe 2 en fonction de leur acidité titrable croissante et activité PPO décroissante.

Ainsi, l'analyse en composantes principales des données physico-chimiques de suivi de dégradation de l'eau de coco en mode aérobie isotherme (30°C) confirme la présence de phases correspondant aux changements de propriétés physicochimiques de l'eau de coco. D'après ces résultats, les premiers changements significatifs des paramètres physicochimiques de l'eau de coco apparaissent après 6 à 8 heures de stockage à 30°C. En effet, deux des critères choisis pour cette étude : la teneur en oxygène dissous et le pH (corrélés à la première composante des ACP) suffisent à décrire le passage des phases [A-B], sorte de « phase de latence » (teneur en oxygène dissous élevée et stable, pH stable) aux phases [C-D-E], premiers signes de fermentation (chute de l'oxygène dissous, début d'augmentation de l'acidité titrable).

IV.2.5.2. - Apport de la SPIR au suivi de la conservation de l'eau de coco à température ambiante tropicale

Les spectres « visible et proche infrarouge » (450 à 1850 nm) de l'eau de coco ont été enregistrés toutes les 20 minutes (Figure 33) pendant la durée des expérimentations, soit 27 heures pour l'eau de coco issue des noix de NVE récoltées à 7 mois et 49h pour celles issues de NVE récoltées à 9 mois. Les données spectrales sont donc stockées sous la forme de matrices de [82 à 132] lignes x 1411 colonnes. L'analyse de ce type de base de données fait appel à la chimiométrie : « science de l'acquisition, de la validation et du traitement des données dans la domaine de la chimie analytique » (Bertrand et Dufour, 2000).

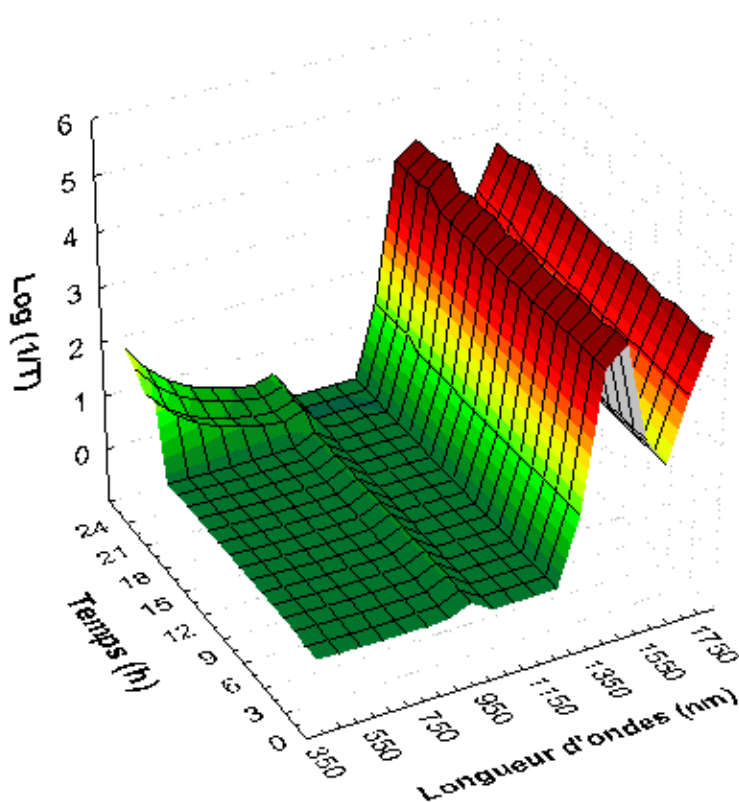


Figure 33. Spectres bruts d'eau de coco issue de la variété NVE récoltée à 7 mois enregistrés au cours du suivi de dégradation en mode aérobie isotherme (30°C)

La zone des longueurs d'onde comprise entre 1400 et 1750 nm est très bruitée et présente des valeurs d'absorbance supérieures à 2. Le détecteur est saturé. Cette zone est donc éliminée des calculs. Les spectres bruts d'eau de coco sont très proches du spectre brut de l'eau pure. Les zones d'absorption remarquables, tout comme pour l'eau pure, se situent vers les 970, 1190 et 1450 nm. On observe cependant sur le spectre de l'eau pure, obtenu dans les

mêmes conditions, l'absence d'absorption dans la zone des 1190 nm. Un pic d'absorption situé aux environs des 1170nm apparaît sur l'eau de coco à partir de 24h de stockage à 30°C pour les noix de NVE récoltées à 7 mois et à partir de 22h pour celles récoltées à 9 mois.

Plusieurs prétraitements des spectres bruts ont été testés. Le prétraitement adopté pour tous les spectres a été le lissage par pas de 25 nm et une normalisation par aire sous la courbe. Une analyse en composantes principales (ACP) est ensuite calculée pour l'ensemble des données spectrales prétraitées.

Noix récoltée à 7 mois

L'analyse en composantes principales des spectres de l'eau de coco de NVE récoltés à 7 mois (Figure 34) a conduit à l'élimination de 5 outliers (spectres trop éloignés du spectre moyen) : échantillons 68, 69, 70, 81 et 82 correspondant aux analyses de 22h, 22h20, 22h40, 26h20 et 26h40.

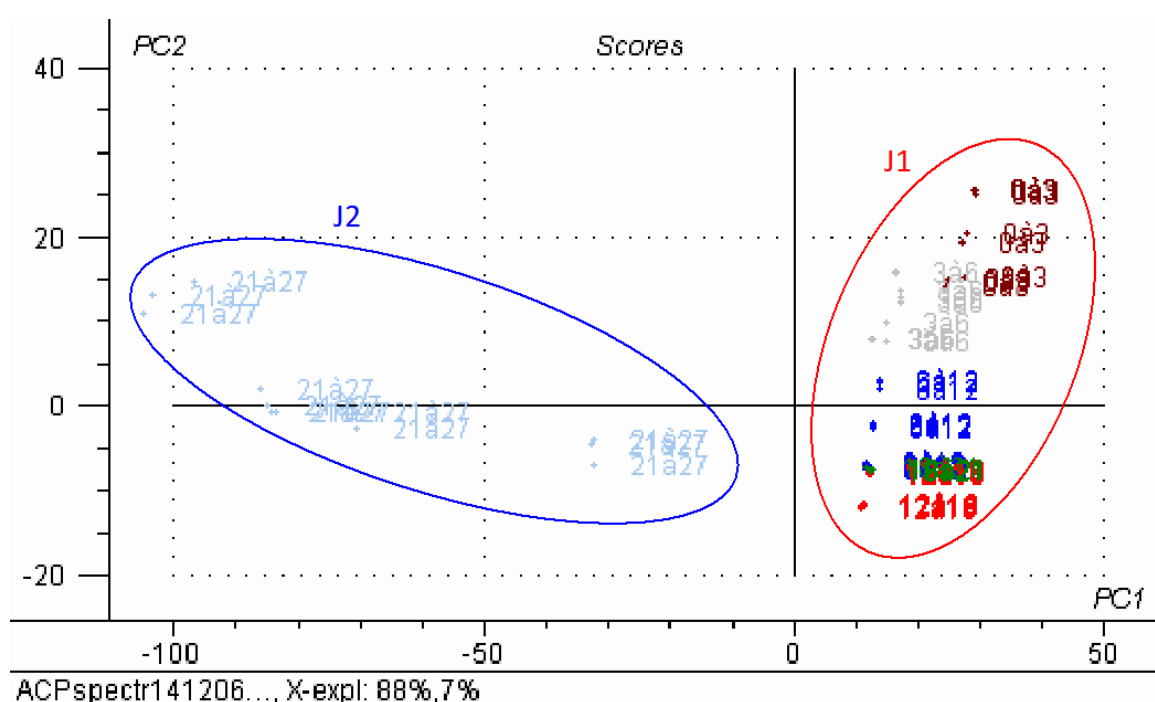


Figure 34. Projection des individus sur les première et deuxième composantes de l'ACP des spectres de l'eau des noix de coco de la variété NVE récoltée à 7 mois. Spectres réalisés au cours du suivi de dégradation de l'eau de coco en conditions isothermes (30°C) entre 0 et 27h (J1+J2)

L'analyse des spectres restant permet de montrer que les trois premières composantes expliquent 98% de la variance totale présentée par les échantillons. L'axe 1 (88% de la

spectrophotométrie proche infrarouge semblent montrer une plus grande sensibilité dans la phase de transition B-C. Globalement, ces observations sont en concordance avec les résultats obtenus grâce aux analyses physico-chimiques.

Noix récoltées à 9 mois

La même approche développée sur les eaux des noix de coco de NVE récoltées à 9 mois vient confirmer nos observations. L'analyse ACP (après élimination d'un outlier : échantillon 137 correspondant à l'échantillon de 49h) appliquée aux spectres d'absorption dans le visible et le proche infrarouge (Figure 36) montre que les échantillons se répartissent en trois groupes bien distincts. Chacun des groupes correspond à des degrés de dégradation de l'eau de coco au temps J1 (0 à 6h), J2 (22 à 28h) et J3 (46 à 49h).

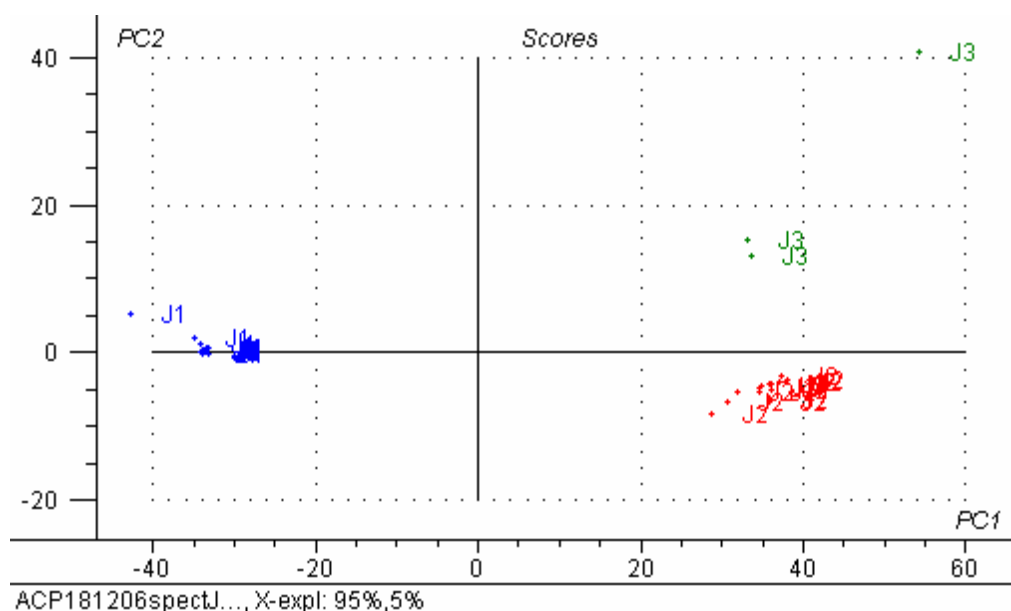


Figure 36. Projection des individus sur les première et deuxième composantes de l'ACP des spectres de l'eau des noix de coco de la variété NVE récoltée à 9 mois. Spectres réalisés au cours du suivi de dégradation de l'eau de coco à température constante (30°C) en fonction du temps (J1 = 0 à 6h, J2 = 22 à 28h, J3 = 46 à 49h)

Ainsi, le spectre d'absorption de l'eau de coco dans le proche infrarouge reflète l'évolution de la qualité physico-chimique de la matière première. Il semble tout à fait possible, à l'aide d'une mesure PIR, de situer dans le temps les phénomènes de dégradation

du produit. Une analyse approfondie des longueurs d'ondes corrélées aux différentes phases de modifications du produit pourrait apporter des informations plus précises sur le type de phénomène impliquée (acidification, disparition des glucides, apparition de nouveaux composés, augmentation de la biomasse...). Toutefois, cette information n'est pas obligatoire dans un suivi de procédé. La simple détection d'une modification du spectre d'absorption peut suffire à conduire une opération unitaire de façon satisfaisante.

IV.2.6. - Conclusion partielle

Les résultats de ces deux premières parties traitant de l'eau de coco en tant que matière première, peuvent être synthétisés comme suit :

- **la variété de cocotier et le stade de maturité à la récolte des noix ont une influence significative sur les attributs de qualité de l'eau de coco** ; la variété de cocotier Grand GOA, par exemple, semble se distinguer par une teneur en sorbitol et des niveaux plus élevés d'activité POD ;
- le **profil aromatique** des eaux de coco de cinq variétés de Côte d'Ivoire a été décrit : 55 molécules, communes à toutes les variétés, ont été détectées dont 41 ont pu être identifiées ;
- il est possible de définir, par variété, un **stade optimal de récolte** en fonction de critères morphométriques (pourcentage d'eau dans la noix, poids de l'eau), physico-chimiques (indice de saveur sucrée, pH...) et aromatiques ;
- un **indice global de qualité** est proposé afin d'évaluer le potentiel d'une variété pour sa transformation en boisson;
- la dégradation de l'eau de coco à température ambiante tropicale est rapide et peut être **suivie en ligne par spectrométrie proche infrarouge** ;
- en l'absence de traitements conservateurs, l'eau de coco doit être **transformée/stabilisée ou consommée moins de 2 heures après ouverture** de la noix.

Les résultats de ces deux premières parties consacrées à l'eau de coco en tant que matière première à usage de boisson sont nombreux et peuvent être utilisés aussi bien par les producteurs de noix de coco que par les sélectionneurs ou les transformateurs. Chacun de ces acteurs de la filière, en fonction de ses objectifs et de ses moyens pourra puiser dans les outils proposés ici pour affiner la connaissance de son produit. Ces résultats ouvrent de nombreuses possibilités de recherches. Le stade optimal de récolte ou l'indice global de qualité, par

exemple, doivent être testés pour leur robustesse en différents lieux et sur différentes périodes de récolte.

L'eau de coco, une fois extraite de la noix doit être rapidement stabilisée. Le deuxième objectif de ce travail était la stabilisation de l'eau de coco à l'aide de procédés innovants du type chauffage ohmique et traitements membranaires. Les parties 3 et 4 de ce document sont consacrées aux essais de stabilisation du produit à l'échelle pilote.

IV.3. - Traitement thermique de l'eau de coco par chauffage ohmique

IV.3.1. - Caractéristiques du lot d'eau de coco traité

Le lot CO d'eau de coco provient d'un ensemble de 18 noix de coco partiellement débourrées importées de Thaïlande. Ces noix sont, d'après le fournisseur, issues de la variété NVT récoltée à un stade immature (7 à 8 mois). Les caractéristiques physicochimiques de ce lot sont présentées dans le tableau 8.

Tableau 8. Caractéristiques du lot d'eau de coco CO

Lot CO	Moyenne \pm écart-type
Poids de l'eau de coco (kg)	0,3563 \pm 0,0588
Pourcentage massique d'eau par noix (%)	34 \pm 3
<i>Analyse de l'eau de coco</i>	
pH	6,32 \pm 0,01
Conductivité électrique (S.m ⁻¹)	0,775 \pm 0,001
O ₂ dissous à 20°C (mg.L ⁻¹)	6,2 \pm 0,2
ESS (g.kg ⁻¹)	62 \pm 1
Sucres solubles totaux (g.L ⁻¹)	61,5 \pm 0,7
Sorbitol (g.L ⁻¹)	0,35 \pm 0,01
Saccharose (g.L ⁻¹)	12,1 \pm 0,3
Fructose (g.L ⁻¹)	21,1 \pm 0,1
Glucose (g.L ⁻¹)	27,5 \pm 0,3
Acidité titrable (mEq.L ⁻¹)	5,6 \pm 1,4
Minéraux (mg.L ⁻¹)	
K	2,25 \pm 0,26
Mg	0,19 \pm 0,03
Na	0,17 \pm 0,03
Ca	0,15 \pm 0,05
P	0,13 \pm 0,01
Activité POD (U.mL ⁻¹)	213,0 \pm 7,5
Activité PPO (U.mL ⁻¹)	28,2 \pm 0,3
Ratio PPO/POD	0,13

Le lot CO présente des caractéristiques normales pour une eau de coco immature, un pH élevé et un ESS correct. Comme attendu dans l'eau de coco, le potassium est l'élément minéral le plus représenté. Les activités POD et PPO de ce lot sont plus élevées que celles observées sur la même variété (NVT) en provenance de Côte d'Ivoire. Cette dernière possède des activités POD et PPO de 30,5 et 14,3 U.mL⁻¹ à 8 mois, c'est-à-dire des niveaux d'activité respectivement 7 et 2 fois plus faibles. En Côte d'Ivoire, des niveaux d'activité équivalents se retrouvent plutôt dans l'eau de coco des noix de GOA et de NJM récoltées à 9 mois.

L'analyse SPME-GC-MS du lot CO fournit les mêmes molécules que précédemment identifiées sur les variétés de Côte d'Ivoire, ce qui permet de constituer les mêmes classes de familles chimiques. Cependant, les proportions de ces classes sont différentes de celles observées sur le NVT de Côte d'Ivoire (Figure 37).

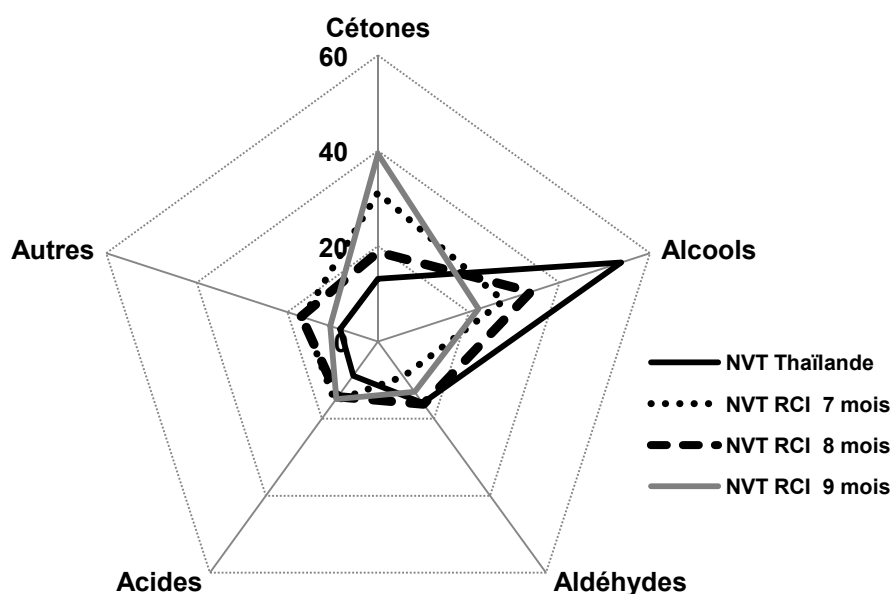


Figure 37. Pourcentages des familles de composés volatils de l'eau de coco du lot CO (NVT Thaïlande) et des eaux de coco de la même variété récoltée en Côte d'Ivoire (RCI) à 7, 8 et 9 mois de maturité

Le lot CO présente un plus fort pourcentage d'alcools et beaucoup moins de cétones que les eaux récoltées en Côte d'Ivoire. Seule l'eau de coco de NVT récoltée au stade de 8 mois en Côte d'Ivoire présente une allure proche à celle de l'eau récoltée en Thaïlande. Ainsi, les caractéristiques du lot CO sont différentes de celles des eaux de coco issues de variétés de Côte d'Ivoire mais sont bien celles d'une eau de coco immature.

Le pH du lot CO de 6,32 combiné à la présence de sucres fermentescibles implique l'utilisation d'un traitement thermique de type stérilisation si l'on souhaite conserver ce produit à température ambiante pendant plusieurs mois. Le marché international visé par cette boisson nécessite en effet des modes de conservation adaptés au transport maritime et des produits aux normes sanitaires internationales. Il a donc été choisi d'étudier l'impact d'une stérilisation par chauffage ohmique sur l'inactivation de la peroxydase, principale responsable des changements de couleur et du développement de flaveurs indésirables. Les effets du procédé sur la qualité de l'eau de coco immature et plus particulièrement son profil aromatique sont également pris en compte.

IV.3.2. - Cinétiques de dégradation de l'activité POD et évolution du profil aromatique

L'objectif de cette partie du travail était de stabiliser l'eau de coco à l'aide d'un procédé de chauffage ohmique, d'observer la cinétique d'inactivation de la POD tout en étudiant l'impact du traitement sur le profil aromatique du produit. A cette fin, des essais ont été réalisés à différentes températures 100, 110, 120, 130 et 140°C sur des durées de chauffage allant de 5 à 600 s. Les résultats de ce travail font l'objet d'un article en cours de rédaction qu'il est prévu de soumettre au journal LWT-Food Science and Technology.

Présentation de l'article en français

Inactivation de la peroxydase au cours d'un traitement par chauffage ohmique et impact sur les composés volatils de l'eau de coco immature

Prades A.^{a*}, Dornier M.^b, Picard-Palmade L.^c, Pain J.P.^d

^aCIRAD, UMR 95 QUALISUD, F-34398 Montpellier cedex 5, France

^bMontpellier SupAgro, UMR 95 QUALISUD, F-34398 Montpellier cedex 5, France

^cUniversité Montpellier II, UMR IATE, F-34090 Montpellier, France

^dUniversité Montpellier II, UMR 95 QUALISUD, F-34090 Montpellier, France

***corresponding author**

Email : alexia.prades@cirad.fr

CIRAD, UMR QUALISUD, 73 Rue Jean-François Breton, TA B-95/16, F-34398 Montpellier cedex 5, France

Résumé

L'eau de coco immature est un jus de fruit très peu acide contenant essentiellement des sucres et des sels minéraux. Elle a fait récemment son apparition sur le marché mondial des boissons santé car elle serait, sous conditions de sélection et récolte des noix de coco, naturellement isotonique. C'est également, et avant tout, une boisson rafraîchissante recherchée pour ses qualités aromatiques, associées à son origine variétale. Cependant, comme la plupart des jus de fruits, elle est sensible aux dégradations provoquées par la présence active de la peroxydase (POD) et sa flaveur, portées par des composés volatils, est modifiée par les traitements thermiques de stabilisation. Contrairement aux procédés thermiques conventionnels, le chauffage ohmique est une technologie innovante qui utilise un mode de chauffage volumique pour pasteuriser ou stériliser les produits. Grâce à ce mode de fonctionnement, il permet de mieux préserver les composés d'arôme. Cette étude vise à étudier l'inactivation de la POD de l'eau de coco immature par chauffage ohmique tout en observant l'impact du traitement sur les composés volatils du produit et en assurant sa stérilité commerciale. Tout d'abord, les cinétiques d'inactivation de la POD ont été représentées par un modèle de Weibull. Les variations des composés volatils au cours du chauffage ohmique sont ensuite décrites. Ainsi, un groupe de molécules volatiles a été identifié comme marqueurs potentiels pour des études cinétiques ultérieures, dédiées à l'impact du procédé sur la qualité aromatique de l'eau de coco immature.

Publication en cours de rédaction

Peroxydase inactivation by ohmic heating and changes in the volatile compounds of immature coconut water

Prades A.^{a*}, Dornier M.^b, Picard-Palmade L.^c, Pain J.P.^d

^aCIRAD, UMR 95 QUALISUD, F-34398 Montpellier cedex 5, France

^bMontpellier SupAgro, UMR 95 QUALISUD, F-34398 Montpellier cedex 5, France

^cUniversité Montpellier II, UMR IATE, F-34090 Montpellier, France

^dUniversité Montpellier II, UMR 95 QUALISUD, F-34090 Montpellier, France

***corresponding author**

Email : alexia.prades@cirad.fr

CIRAD, UMR QUALISUD, 73 Rue Jean-François Breton, TA B-95/16, F-34398 Montpellier cedex 5, France

Abstract

Immature coconut water is a low acid fruit juice mainly composed of sugars and minerals. It has been recently entering the international beverage market because of its natural functional properties. Despite its isotonic quality, it can also be a tasty refreshing drink especially when it comes from aromatic coconut varieties. However, as many fruit juices, it is subjected to peroxidase enzyme degradation and its flavor, outlined by its volatile compounds composition, is modified by thermal treatment. Unlike conventional thermal processes, ohmic heating is an innovative technology using volumetric heating technique to pasteurize or sterilize food products. As such, it is known to overcome the overheating problem in fruit juices and have better result on aroma preservation. This study aimed at inactivating POD enzyme in immature coconut water by ohmic heating while looking at the volatile compounds evolution under the constraint of obtaining a commercially safe product. First, POD enzyme inactivation kinetic was fitted by a Weibull model. Then the volatile compounds variations during ohmic heating were described and a set of molecules was identified accordingly as potential thermal markers for further kinetic studies.

Keywords: *Cocos nucifera* L., POD, thermal processing, aroma

Introduction

Immature coconut water (*Cocos nucifera* L.) is a refreshing drink highly appreciated by consumers in the tropical areas where it is mainly served in its natural packaging i.e. in the nut. The main nutritional interests of coconut water remained its isotonic properties involving a good electrolytic balance, its natural low soluble sugar content and, for some varieties an interesting and renowned flavor (Kwiatkowski et al., 2008). For instance, the “Green Aromatic Dwarf” coming from Thailand is one of the most appreciated coconut cultivar in Asia and around the world because of the delicate aroma and taste of its fruits. Thanks to this aura of natural and healthy drink, coconut water popularity has been recently increasing on the international beverage market, leading to industrial processing development, especially in Brazil (Duarte et al., 2002).

Although coconut water is sterile as long as it remains in the inner cavity of the nut (Anith, 2009), it is very difficult to preserve. As soon as the nut is opened, its biochemical composition and physical appearance begin to change. The major problem encountered in coconut water stabilization is apparently not microbiological or chemical stability since these objectives have already been partially achieved (Chowdhury et al., 2005; Costa et al., 2005), but the fact that enzymes need to be inactivated to stabilize the color and taste of the final product. As is true for many fruits and vegetables, peroxidase enzyme (POD) is present in immature coconut water. POD is a group of isoenzymes that catalyses oxidation reactions that lead to undesirable compounds in foods (Fox, 1991). These compounds are often related to browning and off flavor.

The consequence of POD activities in coconut water is mainly discoloration. Yellow, brown or pink discoloration can occur a few minutes or a few hours after the nut is cracked. And as POD is known for its reactivation capacity after thermal processing (Thongsook, 2007), discoloration can also occur after several weeks of storage of the pasteurized or sterilized coconut water. To prevent the consequences of POD activity in coconut water, several authors suggested inactivating the enzyme by thermal treatments. Low temperature treatments such as pasteurization (Campos et al., 1996; Murasaki-Alberti et al., 2009; Abreu and Faria, 2007) or microwave heating (Matsui, 2008), even efficient enough to inactivate enzymes, may not be convenient for the microbial stabilization of coconut water. The product pH, ranging from 4.7 to 6.5 according to the variety (Prades et al., 2012a), is above 4.5 which places the coconut water in the category of low acid food. As a consequence, natural immature coconut water should be preferentially treated with high temperature short time

(HTST) process to obtain its commercial sterility. Moreover, the fragile volatile compounds involved in its original flavor (Prades et al., submitted) would probably be more preserved by an HTST treatment.

Ohmic heating is an innovative technology based on the Joule effect that enables the product to be heated in its global volume (Goullieux and Pain, 2005). It has already been applied on a wide variety of semi-solid (Terefe et al., 2010; Icier et al. 2006; Lee et al. 2009) and liquid products (Roux et al. 2009). Ohmic heating is also efficient to inactivate food enzymes such as alkaline phosphatase, pectin methylesterase and peroxidase in fruit juices (Jakob et al., 2010). Compared to conventional thermal treatment, electrical fields, applied during ohmic heating of enzymes caused their faster inactivation (Castro et al. 2004). Moreover, at the same temperature, the treatment time is generally shorter in ohmic heating than in conventional heating because of the high rate of temperature increase in the product. As a consequence, ohmic heating is supposed to less impact the quality and in particular to preserve the flavor of the product (Leizerson et al., 2005).

The objectives of this study were to investigate the kinetic of peroxidase inactivation during ohmic heating of immature coconut water and to look at the global changes of its volatile compounds in order to identify a pool of key molecules that could be later used as flavor quality indicators for the thermal treated product.

Material and methods

Biological material

Eighteen partially husked immature coconut fruits (*Cocos nucifera* L.) from the Aromatic Green Dwarf variety were imported from Thailand (Cock Brand) and stored maximum 2 days at +14°C before coconut water extraction. Two holes were made in each of the immature coconut fruits and their water was filtered (0.5 mm) and poured in a sanitized glass vessel. The individual samples of coconut water were then mixed altogether, put in glass bottles and frozen at -50°C before storage at -20°C. Twenty four hours before ohmic treatment, they were allowed to thaw at +4°C. The physicochemical characteristics of the mixed coconut juice are a pH of 6.32 ± 0.01 , a soluble solids content of 62.0 ± 0.2 g.L⁻¹, an electrical conductivity of 0.77 ± 0.01 S.m⁻¹ and an initial POD activity of 213.0 ± 7.5 U.mL⁻¹. The physicochemical characteristics of the coconut water batch were higher than the one of Campos et al., 1996 and Murasaki-Aliberti et al., 2009 especially for soluble solids content and POD activity. The difference could come from the variety and maturity stage as these authors worked with Brazilian unspecified variety bought in a supermarket whereas our study

was done on immature Aromatic Green Dwarf coconut coming from Thailand, a variety devoted to coconut water processing.

Ohmic reactor design and treatments

The thermal treatments of coconut water were carried out in a laboratory-scale static batch ohmic reactor previously described by Roux *et al.*, 2010 (Fig.1). The treatment cell, made of ULTEM®, had a volume of 100 mL, an internal diameter of 3.55 cm, an external diameter of 4.15 cm and a length of 10.1 cm. The electrodes (Magneto, BA Schiedam, the Netherlands) were made of titanium coated with a specific Dimension Stable Anode (DSA), specially patented for not being affected by electrolysis during ohmic heating at 50 Hz. The ohmic cell was continuously flowed by a nitrogen flux. The gas entered the bottom of the cell and exited at the top, maintaining a constant pressure of 4 to 4.5 bars within the reactor. A voltage generator (5 kW power set) supplied the electrodes with 50 Hz alternative current. Both voltage and current varied respectively between 0 and 320 V and 0 and 20 A creating a steady electrical field between 0 and 3 kV.m⁻¹. The temperature was considered as homogenous in the cell (Roux *et al.*, 2010) and monitored by a K-type thermocouple placed in the cell. This temperature signal controlled the voltage applied between the electrodes in order to obtain and maintain the targeted temperature during the heating and holding phases. Specific monitoring equipment (Simulator Control and Data Acquisition – SCADA) was designed and controlled, via a LabVIEW® program, to collect and manage time/temperature data every 0.3 s. The sampling device used by Roux *et al.*, 2010 allowed the collection of five 15mL samples during one treatment. During cooling phase, the product temperature was monitored by a K-type thermocouple placed in one of the five collecting cylinders. In our case, the collecting system was slightly modified: a non-return valve was added between the collecting valve and the stainless steel collecting cylinder. Thanks to this added closing system, the sample cylinders remained hermetically closed during the cooling phase and oxygen penetration into the sample after ohmic treatment was drastically limited. A specific collecting device made of capillary tubing, a three-way valve, and a 5 mL sterile syringe allowed a fixed volume of the collected samples to be poured directly inside an HS-SPME glass vessel. Five milliliters aliquot of each sample was placed in a 10 mL glass vial containing 2g of pure NaCl sealed by a butyl/Teflon septum with an aluminium cap and directly frozen at -50°C. Other aliquots were collected by the same way for POD activity measurement and stored at -20°C before analysis.

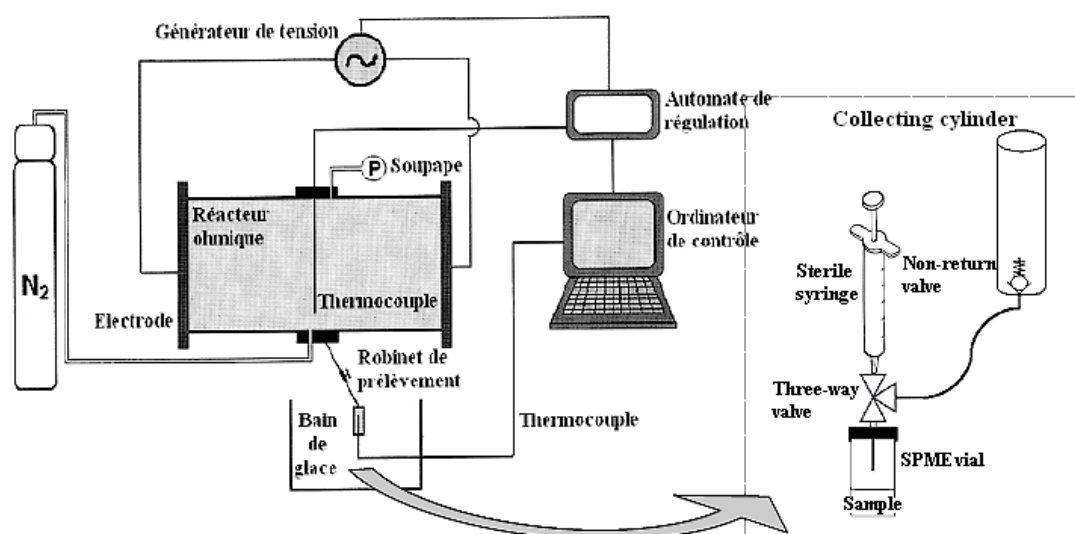


Figure 1. Ohmic reactor with a detailed view of the SPME sampling system

Fifty eight thermal treatments were applied to coconut water samples with temperature ranging from 100°C to 140°C and time from 0 to 600s (Table 1). Nearly half of the treatments (n=23) were duplicated.

Table 1. Experimental design of the ohmic heating of young coconut water

Temperature (°C)	100	110	120	130	140
Non-isothermal stage: temperature at sampling (°C)	50*	50	50	70	70
	70*	70*	70	90*	90
	90*	90	90*	110	110
		100*	100	120*	120*
			110		130*
Isothermal stage: time at sampling (s)	0*	0*	0*	0*	0*
	60	30*	30	15	5
	120	60	60*	30*	10
	180	120*	90	60	15
	300*	180	120*	90	30*
	420	240	180	120	60
	540*	300	240	180	120
	600*				180

*duplicate

Physicochemical analyses

pH was determined in triplicate thanks to a WTW 300 pH meter (WTW GmbH, Weilheim, Germany). Total soluble solids expressed in g.L⁻¹ were measured thanks to a hand-held refractometer (Atago, Japan) and electrical conductivity expressed in S.m⁻¹ was assessed by a 2690-8 Almemo® data logger (Ahlborn GmbH, Holzkirchen, Germany) equipped with a special 0-2 S.m⁻¹ FYA641-LF conductivity probe.

Peroxidase activity assay

The peroxidase activity of coconut water was determined by the method of Campos et al., (1996) with some modifications. Just after ohmic heating, samples were frozen and stored for one week before analysis. Previous tests did not show any significant effect of the freezing period on POD activity measurement. Spectrophotometric analyses were carried out at 35°C on a UV 2450 spectrometer (Shimadzu Corp., Kyoto, Japan). The absorbance of the solutions containing 1.05 mL of 0.2 M phosphate buffer (pH 5.5), 600 µL of 0.04 M gallicol (phenolic substrate), 300 µL 0.03 M oxygen peroxide and 400 µL of distilled water was used as a blank. The absorbance of the same solution and 400µL of sample instead of distilled water was recorded at 470 nm for 10 min at 0.5 min interval. The POD activity (A) was expressed as enzymatic units per milliliter of coconut water (U.mL⁻¹) where 1 unit of U is defined as the change in absorbance of 0.001 unit per min. Each sample was assayed in duplicate. The enzyme residual activity A/A_0 was defined as the POD activity measured at a given time t of the heating or isothermal phase (A), divided by the initial POD enzyme activity i.e. POD activity of the untreated sample (A_0).

Volatile compounds analysis by HS-SPME/GC-MS

The coconut water volatile compounds were separated on an HP-6890A Gas Chromatograph (Avondale, PA) connected to an HP-5973N Mass Spectrometer. The 10 mL vial containing 5 mL aliquot coconut water and 2 g of pure NaCl were stirred during 10 min at 50°C. The solid phase microextraction (SPME) fiber coated with 75µm Carboxen™/Polydimethylsiloxane (CAR/PDMS) was conditioned according to the manufacturer's recommendations prior to their first use. The fiber was introduced in the vial and stayed in contact with the coconut water headspace (HS) during 60 min at 50°C. After adsorption of volatile compounds on the SPME fiber, they were desorbed and separated with a DBWAX (J&W Scientific, Folsom, CA) capillary column (30 m x 0.32 mm i.d., 0.25 µm film thickness). Injection was done in splitless mode for 4 min at 250°C with a specific SPME insert. Column temperature programme rose from 40 to 150°C at 2°C.min⁻¹ then increased from 150 to 210°C at 6°C.min⁻¹ and was held at 210°C for 10 min. Helium was used as carrier

gas at a constant flow mode (1 mL.min⁻¹). The MS source temperature was 150°C, and the mass spectra were scanned in EI+ mode with a current of 70 eV. The mass range scanned from m/z 40 to 250. Non isothermal linear retention indexes (type Kovats) were calculated after analysis under the same conditions of a C₆-C₂₀ n alkane series (Supelco Inc., Bellefonte, PA, USA). The identification of the volatile compounds was done by comparing their mass spectra with those of the reference database (Wiley Mass Spectral Data and NIST 2002) and their linear retention index with the literature. The responses of the single molecules called standardized area S were based on the individual peak areas of GC/MS chromatogram divided by the area of the internal standard (50µL of 2-heptanone 1µg.L⁻¹). The identified volatile compounds were sorted in different chemical classes as alcohols, ketones, aldehydes, esters, acids, lactones and others. An aromatic distance (Cisse et al., 2011) was calculated as follows:

$$AD = \sqrt{\sum (S_0 - S_t)^2}$$

where S_t is the standardized area at a given treatment time t and S_0 is the standardized area at t_0 . All the experiments were carried out on the same GC apparatus in the same conditions. Principal Component Analysis (PCA) and projection on PCA were performed on the individual volatile compounds responses using The Unscrambler® X V10.1 (CAMO Software AS., Oslo, Norway).

Kinetic of peroxidase inactivation

Under ohmic heating treatment, the POD inactivation phenomenon typically showed a high rate of reaction at high temperatures whereas the rate was slowing down at the lowest. Moreover, the enzyme inactivation begins only when a certain temperature has been reached (Fox, 1991). According to the behavior of the POD residual activity during ohmic treatment, an empiric model of Weibull (van Boekel, 2009) was chosen to describe the enzyme inactivation during ohmic heating as an alternative to the typical mechanistic Arrhenius model which is often used in isothermal conditions. This type of model has already been applied to biological data analysis to simulate microorganism death (Aragao et al., 2007) or larvae survival after thermal disinfestation (Ben Lalli et al., 2011). The equation of POD residual activity time is expressed as

$$\frac{A}{A_0} = \exp(-\beta t^\alpha) \quad (\text{Eq.1})$$

where A/A_0 is the enzyme residual activity, α is the *shape factor* (dimensionless) because it determines the shape of the curve and β , called the *scale factor*, can be seen as the rate constant with dimension $\text{time}^{-\alpha}$.

The temperature dependence of β has been frequently assumed to obey the Arrhenius equation in case of an elementary chemical reactions but β can also be described by an empirical exponential relationship when the phenomena does not seem to show an Arrhenius-like behavior (van Boekel, 2002). Here the β temperature dependence could be described by a log logistic equation as followed

$$\beta = \ln \{1 + \exp[\gamma (T(t) - T_c)]\} \quad (\text{Eq.2})$$

where γ , an empiric constant ($^{\circ}\text{C}^{-1}$) and T_c , the constant critical temperature ($^{\circ}\text{C}$).

The estimation of α and β parameters was done by non-linear regression with a Gauss-Newton algorithm at each temperature treatment between 100°C and 140°C using TableCurve2D® V2.03 (SPSS Inc., Chicago, USA). The uncertainties were estimated at a 95% confidence interval.

Sterilization efficiency

The sterilization efficiency was assessed by computing the F value. The F value is a unit of lethality (or sterilization time) defined as the equivalent time in minutes at 250°F (121°C) of all heat considered with respect to its capacity to destroy spores and vegetative cells of a particular organism. F_0 , at particular temperature other than 121°C , is the time required to provide the lethality equivalent to that which is provided at 121°C for a stated time. It is calculated at 121.1°C with the following equation:

$$F_0 = \int_0^t 10^{\left(\frac{T-121.1}{Z}\right)} dt$$

with z ($^{\circ}\text{C}$) the number of degrees of temperature required for a 1-logarithmic change in the D value, where D (decimal reduction) is the exposure time in minutes required to cause a 1-logarithm or 90% reduction in the population of a particular microorganism (such as *Clostridium botulinum* or *Bacillus stearothermophilus*), t the thermal death time (min) at a temperature T ($^{\circ}\text{C}$). For “12D” decimal reduction of *Clostridium botulinum*, $F_0 = 2.4$ min. For this study, a z value of 10°C was chosen and an F_0 value low limit of 3 min was selected to consider the effective sterilization of immature coconut water.

Results

Ohmic POD inactivation

An example of the five experimental time-temperature profile is given in figure 1. They were very similar to those obtained by Roux et al., 2010 on the same ohmic heating device. The mean heating rate for 100°C, 110°C, 120°C, 130°C and 140°C were respectively of $3.05 \pm 0.08^{\circ}\text{C.s}^{-1}$, $3.27 \pm 0.25^{\circ}\text{C.s}^{-1}$, $2.96 \pm 0.21^{\circ}\text{C.s}^{-1}$, $3.45 \pm 0.32^{\circ}\text{C.s}^{-1}$ and $3.16 \pm 0.40^{\circ}\text{C.s}^{-1}$. These heating rates were not significantly different at a confidence level of 95%. They were as expected higher than the one obtained by Roux et al., 2010 ($1.2^{\circ}\text{C.s}^{-1}$) because of the higher electrical conductivity of immature coconut water ($0.775 \pm 0.015 \text{ S.m}^{-1}$) compared to that of the milk infant formula ($0.595 \pm 0.035 \text{ S.m}^{-1}$) used in the previous study. The temperature during the holding phase had good relative standard deviation of 0.3% to 0.7%, according to the isotherm target temperature.

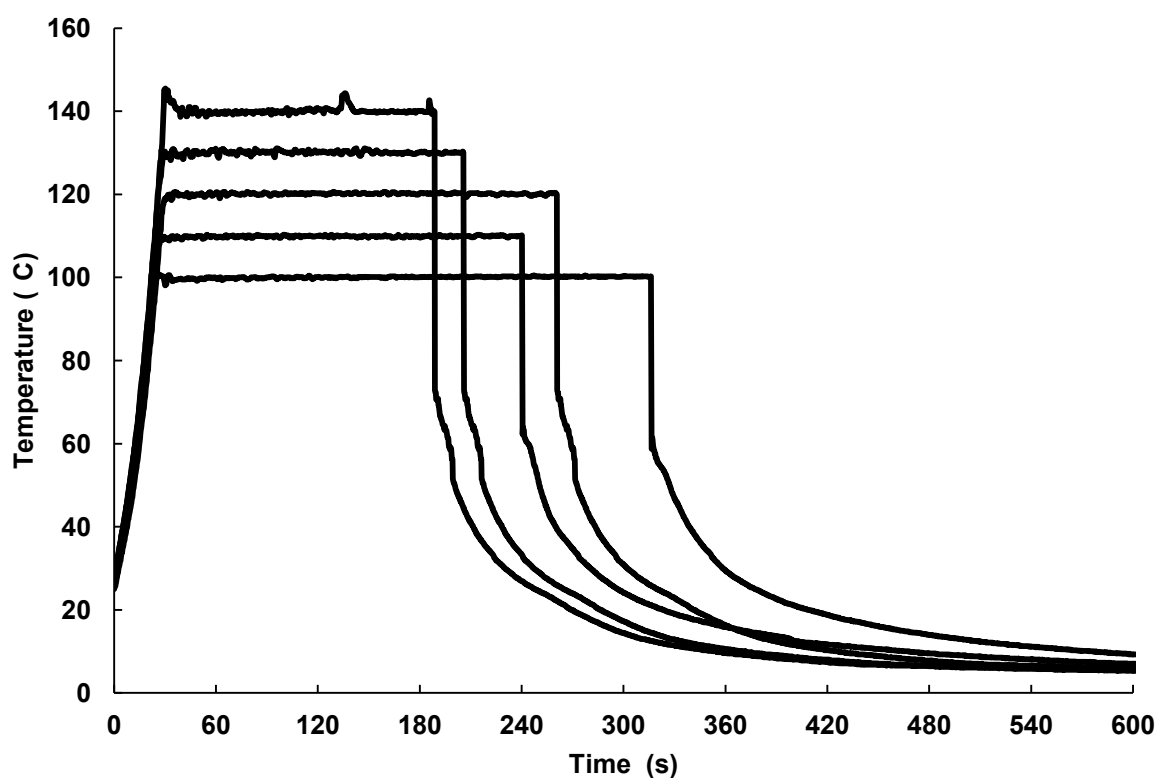


Figure 1. Time-temperature profiles of immature young coconut water during batch ohmic treatment

The POD inactivation during ohmic heating treatment of immature coconut water between 100°C and 140°C showed a typical sigmoidal pattern (Fig. 2a). In less than 30 seconds which is the duration of the heating phase, the POD enzyme activation losses are respectively of 70% at 100°C, 80% at 110°C, 94% at 120°C, 96% at 130°C, and 100% at

140°C. The inactivation phenomenon was extremely rapid and took place mainly during the heating phase of the treatment. Therefore, it could not be described through a classical isothermal approach. An attempt to trace the logarithmic curve of the residual POD activity (Fig. 2b) showed that only 100°C and 110°C could have been fitted by a biphasic model. Effectively, investigations on the kinetics of inactivation of the POD indicated that at least two isoenzymes: one stable fraction and one labile fraction were present in young coconut water (Murasaki-Alberti et al., 2009). In the last study, the thermal behavior of the different fractions was analyzed and quantified during pasteurization at 75, 80 and 85°C. The authors developed two different mathematical equations to predict the thermal resistance of POD fractions using a multicomponent first-order model.

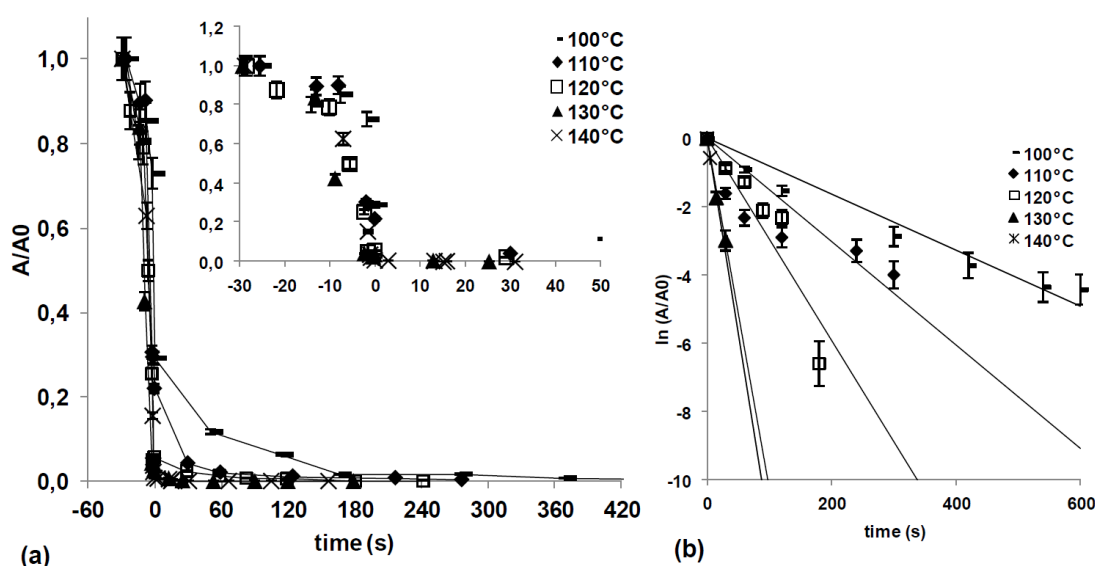


Figure 2. POD Inactivation curves during ohmic heating sterilization of immature coconut water. Fig.2a includes the heating stage; $t=0$ corresponds to the beginning of the isothermal stage. Fig.2b is limited to the isothermal stage.

Nevertheless, taking into account the whole data from 100°C to 140°C, this study tried to describe the POD ohmic inactivation by a Weibullian model which is more suited to this type of biological behavior. In fact, the Weibull model was first develop for mechanical purpose and later applied to microorganism survival curves, nutrients degradation or enzymes inactivation (Corradini and Peleg, 2004; van Boekel, 2009). The wear of mechanical pieces, the death of microorganisms or enzyme inactivation are phenomena that will show a sudden and brutal failure. When looking at their event distribution, they will all present a “lag” phase, an abrupt event and a slowing phase with or without resilience, similar to coconut water POD

enzyme inactivation in figure 3a. The Weibull model has therefore been applied to our data and the values obtained for the scale factor β , the shape factor α parameters and the performance of the model are shown in table 2. The values of the scale parameter β were generally increasing with temperature which confirmed the acceleration of the POD inactivation with temperature. The value of the shape parameter α showed two significantly different levels. This result could be explained by two different behaviors of the POD enzyme during inactivation or two different phases of inactivation at 100-110°C on one side and from 120°C to 140°C on the other side. This could corroborate the biphasic model observed on fig. 3b. One suggested hypothesis could be that, under 110°C, the labile and thermal stable isoenzymes were still present at the beginning of the isothermal stage whereas above 110°C the labile fraction were completely inactivated during the heating phase and only the inactivation of the thermal stable fraction was observed during isothermal stage. At 140°C, both POD isoenzymes were inactivated during the heating stage of the ohmic treatment. Our empirical approach could not obviously conclude on this proposed scenario. More studies in the biochemical and biophysics fields, using differential scanning calorimetric or circular dichroism analyses for example, should be done to describe the POD enzyme degradation process under high temperature and/or electrical environment stresses. Nevertheless, the 2-parameters of the Weibull model showed determination coefficient values ranging from 0.962 to 0.999 and low RMSE (table 2) which were reflecting a rather good fitting of the model (Fig. 3). It is not the only model available but it is not conflicting with the range of our data. And being aware of its limits, it could be used as a starting point for further studies and thus a good support for industrial practical issues.

Table 2. Weibull parameters estimation and model performance

T (°C)	β (min ^{-α})	α	R ² _{adj}	RMSE
100	2.18 ± 0.24	2.59 ± 0.89 ^a	0.962	0.018
110	2.65 ± 0.15	3.08 ± 1.01 ^a	0.964	0.017
120	2.55 ± 0.06	6.21 ± 1.46 ^b	0.980	0.012
130	2.86 ± 0.04	6.83 ± 0.93 ^b	0.995	0.006
140	2.94 ± 0.03	5.69 ± 0.41 ^b	0.999	0.002

Parameter ± confidence limit at 95%

Using our empirical Weibull model, total inactivation of POD enzyme was obtained after 58 s of total treatment time (including heating phase) at 100°C, 43 s at 110°C, 35 s at 120°C, 29 s at 130°C and 29 s at 140°C. Unfortunately, little literature was found on POD inactivation at such range of temperatures and even less with ohmic treatment. However concerning coconut water, Abreu and Faria (2007) worked on the sterilization of coconut water with continuous plate sterilization device (300 L.h⁻¹). Despite the addition of 200 mg/l of ascorbic acid to the product, POD was still active at 40% of its original level after 10 s at 139 °C. Moreover, an unconventional technique, microwave heating, has been used to inactivate POD enzymes (Matsui et al., 2008). The authors reduced the POD activity to 97% after 200s of microwave heating at 90°C. They found that thermal inactivation of POD was faster with microwave processing than with conventional pasteurization. Comparing these results to ours, ohmic heating might be an even faster technique to inactivate coconut water POD.

This result could be sustained by a recent study of Jakob et al. (2010) which revealed that carrot POD inactivation proceeds clearly faster under ohmic heating than under conventional heating for a range of temperature of 62 to 78°C. Ohmic heating was supposed to cause a significant entropic effect on the rate of inactivation of POD through the hypothesis of a modification of the enzyme surface charge and/or enzyme environment by ionization of the surrounding solution. This effect should be stronger for a denaturation unstable intermediate than for the native stable form. Our results seemed to confirm this electrical field effect as the POD inactivation rates were high and showed a different inactivation behavior above 110°C.

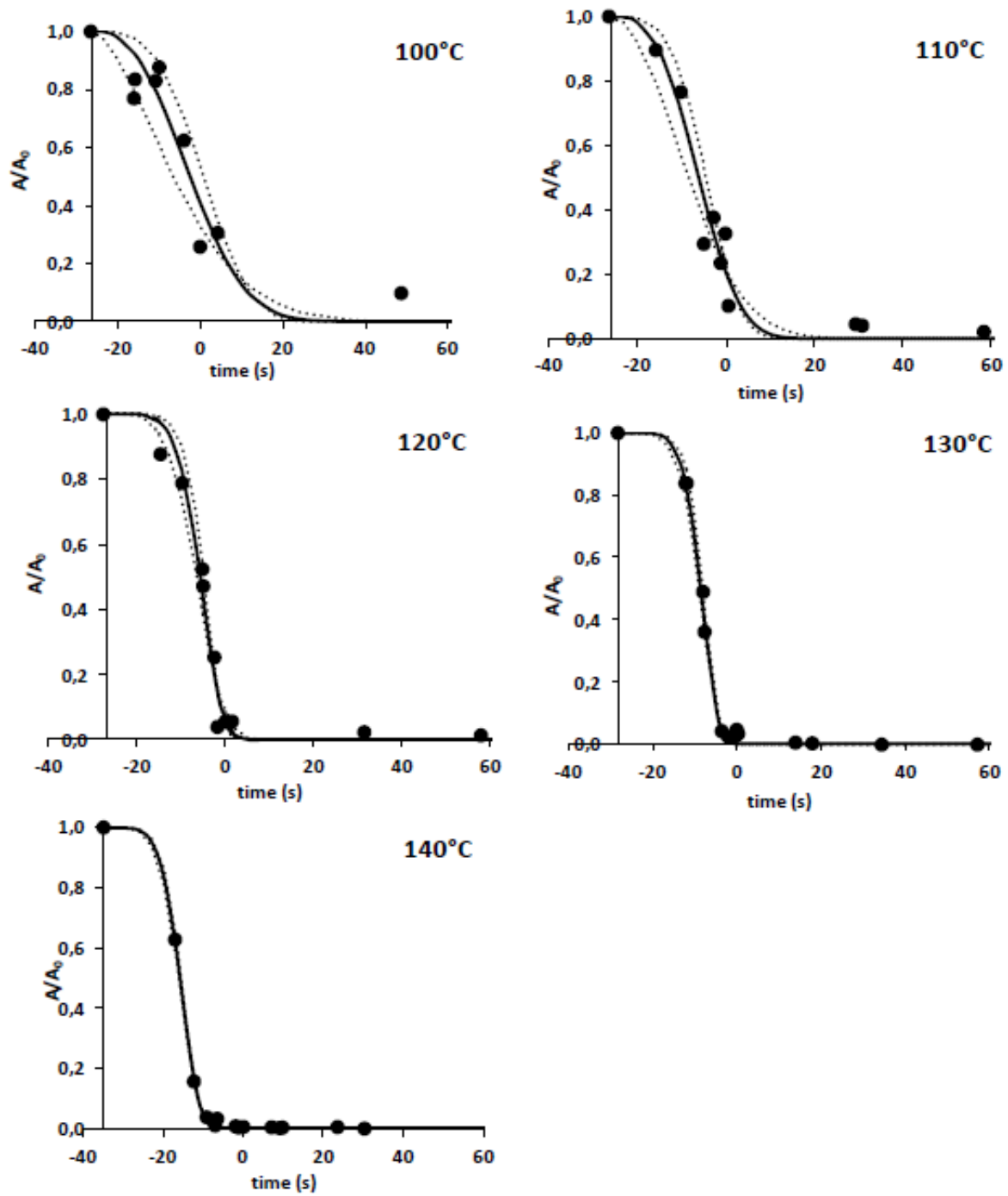


Figure 3. POD inactivation in coconut water during ohmic treatment fitted by a Weibull model. Points are experimental data, continuous line is the model, dotted lines are the 95% confidence intervals

Volatile compounds evolution during ohmic heating

Sixty volatile compounds were identified on the gas chromatogram of immature coconut water before and during ohmic treatment (table 3). Twenty six of these peaks were previously identified by Prades et al. (2011, submitted) on the same coconut cultivar (Thailand Aromatic Green Dwarf). The flavor compounds responsible for the typical coconut water aroma as ethanal, hexanal, 1-hexanol or ethyloctanoate were present. These compounds were still present in coconut water SPME analyses even after high temperature ohmic heating treatment.

Table 3. Volatile compounds of immature coconut water treated by ohmic heating

Compound	RT (min)	RI obs.	RI lit.	Odor
ethanal	1.99	600	721	fruity, green apple
acetone	2.50	811	810	acetone
ethanol	3.96	931	930	alcohol
2,3-butanedione	4.69	967	983	butter, caramel, cream, fruit, pineapple
2-butenal	6.41	1027		
2,3-pentanedione*	7.26	1050		butter, nut, toasted, caramel
dimethyl disulfide*	7.54	1057	1055	sulfurous, cabbage, vegetable, onion
hexanal	8.05	1070	1085	green herb, leafy, vineyard
2-methyl-1-propanol	8.87	1092	1108	bitter, alcohol, glue
3-penten-2-one	9.95	1115	1120	hot, sweet, acetone, fruity
2-methyl-2-pentene	10.29	1121		
1-butanol	11.40	1142	1138	oil, sweet, balsam
3-methyl-1-butanol	14.91	1208	1206	burnt, hot, alcohol, fruity, cheese, sweet, green
1-pentanol	17.43	1250	1244	fermented, bready
3-hydroxy-2-butanone	18.59	1269	1272	humid, fatty, butter
3-methyl-but-2-en-1-ol	21.64	1319	1337	
2-acetyl-1-pyrroline	21.85	1322		popcorn
6-methyl-hept-5-en-2-one	22.19	1328		fruity, green apple, banana, cream
1-butoxy-2-propanol	22.75	1337		
1-hexanol	23.80	1354	1392	floral, dry, fruity, herbs, green herb, leafy
2-nonanone	25.46	1381	1386	fruity, green, coconut like, sweet
nonanal	25.69	1384	1388	waxy, rose, fresh, orange peel
ethyloctanoate	28.47	1430	1429	waxy, fruity, sweet, dairy nuance
methional (3-methyl-thiopropional)*	28.84	1437	1418	vegetable, musty, potato, French fry
furfural*	29.47	1447	1447	bready, caramel, baked bread
1-octen-3-ol	29.78	1452	1477	earthy, mushroom, green, oily
1-heptanol	30.07	1457	1453	fresh, nut, green, wood

Compound	RT (min)	RI obs.	RI lit.	Odor
benzaldehyde	32.60	1500	1522	sugar, burnt, almond, wood
2-hepten-1-ol	33.27	1511		fatty, green
1-octanol	36.19	1560	1565	sugar, burnt, almond, wood
2-ethyl-1-butanol	36.41	1564		alcohol, sweet, musty
2,3-butanediol	37.13	1576		fruit, cream, butter
2-methyl-1-pentanol	37.90	1589		
2-methyl-1-octanol	38.52	1600		
2-nonen-1-ol	39.22	1612		green, melon, sweet
phenylacetaldehyde	39.51	1617	1636	green, sweet, floral, honey, cocoa
3-methyl-2-hexene	39.89	1624		
2-acetylthiazole	39.94	1625	1639	nutty, popcorn, roasted
3,3-dimethyl-1-pentene	39.99	1626		
6-methyl-1-octanol	40.24	1630		
ethyldecanoate	40.56	1636		grape, rose
1-nonanol	42.01	1662	1671	fresh, clean, floral, rose, fatty
3-nonen-1-ol	43.11	1681		
alpha-terpineol	43.55	1689	1720	minty, anis
phenylmethylacetate	44.71	1690		floral, fruity, jasmin
1-dodecanol	47.58	1709	1977	waxy, earthy, soapy
ethyldodecanoate	51.61	1800		waxy, sweet, floral, soapy
benzyl alcohol	52.56	1822	1865	floral, sweet
heptanoic acid	52.84	1838	1901 (CP-WAX)	rancid, sour, cheese
phenylethylalcohol	54.28	1842	1859 (CW-20)	fresh, acetophenone, gardenia
delta octalactone	56.34	1866	1881	cream, coconut, minty
1-(1H-pyrrol-2-yl) - ethanone	57.06	1900	1980	musty, nutty like, coumarin nuance
diphenylether	58.57	1911	1991 (CW-20)	green, geranium leaf
delta decalactone	59.50	1932	2208	coconut, cream, peach note, butter
5-formyl-2,3-dihydro-1H-pyrrolizine*	61.14	1946	1874 (CW-20)	apparaît dans les roasted peanut et roasted coffee (Baltes,1987)
octanoic acid	61.93	1970	2083	acidic, fruity, soapy, sour, oil

Compound	RT (min)	RI obs.	RI lit.	Odor
delta undecalactone	65.20	2000	2251 (CW-20)	coconut, cream, fruity, peach, milky
nonanoic acid	65.90	>2000	2202	waxy, cheese
decanoic acid	67.88	>2000	2361	fatty, rancid
dodecanoic acid	71.99	>2000	2517	mild fatty

**compounds occurring only at severe ohmic time-temperature treatments*

Even so, thermal processing always leads to complex chemical reactions and many of oxygen-containing compounds such as aldehydes, ketones and alcohols are produced from the peroxydation of unsaturated fatty acids and sulfur-containing components from the degradation of amino acids (Perez-Cacho and Roussef, 2008). In heated immature coconut water, few components listed in table 3 were detected in the 140°C treatment samples at respectively 30s for methional, 60s for 2,3-pentanedione and furfural, and 120s for dimethyldisulfide and 5-formyl-2,3-dihydro-1H-pyrrolizine. Methional is a thermally generated product of methionine by Strecker degradation (Wilkens and Lin, 1970, JAFC) and has a cooked potato-like note. Furfural is formed by oxidative degradation of ascorbic acid (Nagy et al., 1989) but is not an odor active compound. It has yet been used as a thermal indicator because it is only generated by severe heating treatments. This was again confirmed by our study where furfural traces were detected only for experimental points after 60s at 140°C. Dimethylsulfide was identified as an off-odor active compound in “reconstituted from concentrate” canned orange juices (Perez-Cacho et al., 2007). The presence of similar molecules was also in accordance with previous studies (Lozano et al., 2007; Colahan-Sederstrom and Peterson, 2005) which detected the presence of sulfur compounds with cooked or roasted odors in UHT-treated soy milk and cow milk.

Besides the apparition of these typical thermal markers, another phenomenon was observed on GC-MS chromatograms. During severe ohmic heating treatment conditions, a fusion between peaks RT 39.89 min (supposed 3-methyl-2-hexene) and RT 39.99 min (supposed 3,3-dimethyl-1-pentene) was observed. After the following time-temperature points: 240s 110°C, 180s 120°C, 90s 130°C and 60s 140°C, the two peaks merged to give one global peak at RT 39.94 min which was definitely identified as 2-acetylthiazole. 2-acetylthiazole, like 2-acetyl-1-pyrroline also present in heated coconut water, is a heterocyclic compound which was involved in the “burnt aroma” of UHT-processed cow’s milk (Colahan-Sederstrom and Peterson, 2005). Like the popcorn notes brought by 2-acetyl-1-pyrroline, 2-acetylthiazole will lead to a roasted aroma. Except this particular fusion event, no other peak disappearance was noticed during our different ohmic heating trials which meant that no existing volatile compounds (present in native coconut water) were destroyed by the treatment.

In order to look at the global change of the volatile “fingerprint” of immature coconut water during ohmic heating, an unsupervised classification method, principal component analysis, was performed on the standardized area of the sixty volatile compounds. This first PCA gave a total variance explanation of 75% with 5 principal components (data not shown).

From the loadings and looking at the influence plot (residual-X variance versus leverage) of this first PCA, 12 compounds were selected: 1-heptanol, 1-hexanol, 3-methyl-1-butanol, ethyloctanoate, decanoic acid, phenylacetaldehyde, 3-hydroxy-2-butanone, 3-penten-2-one, 2-acetylthiazole, 2-acetyl-1-pyrroline, methional and furfural. A new PCA was then performed on the volatile profiles of the coconut water samples. It explained 82% of the total observed variance with 3 principal components (Fig. 4).

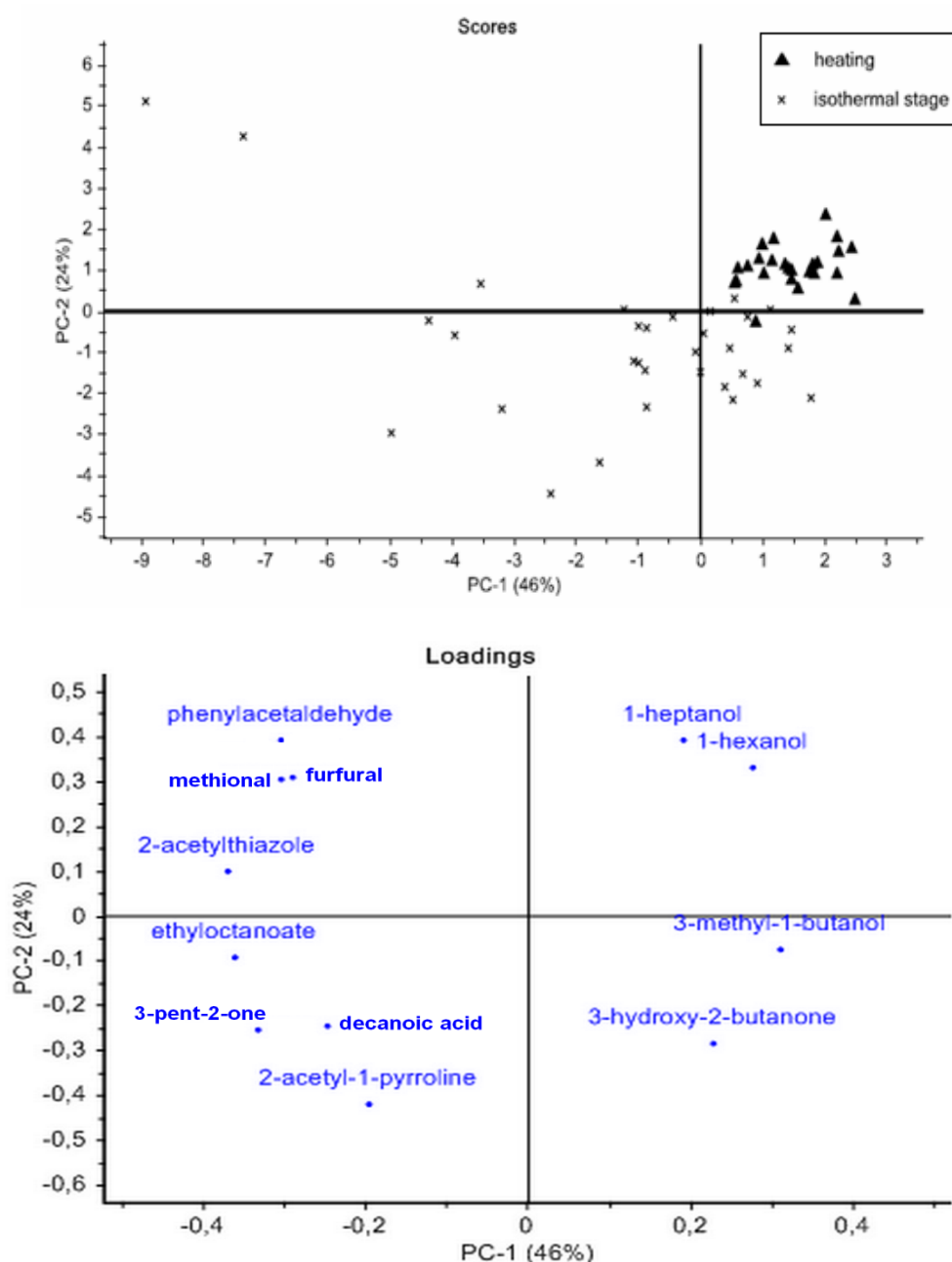


Figure 4. Scores (a) and loadings (b) of the PCA performed on the ohmic treated samples of coconut water at 100°C, 110°C, 120°C, 130°C and 140°C with 12 volatile compounds as variables

The first principal component (46% of the total variance) separated the samples from the heating stage from those of the isothermal stage. Samples from the heating stage were more correlated to 1-hexanol, 1-heptanol which usually bring the fresh, floral or green notes to the aroma. The second principal component explained 24% of the total variance and was more correlated with the “burnt” and “roasted” compound such as methional, furfural on the positive side and 2-acetyl-1-pyrroline on the opposite side. Samples from the late 140°C isothermal stage were placed in the methional and furfural section whereas samples treated at late 120°C and early 130°C isothermal stage were located in the opposite PC2 axe. Finally, PC3 explained the remaining 12% of the total variance and isolated the samples marked by a higher ethyloctanoate and 3-penten-2-one content. These samples were coming from the isothermal stage of the 130°C ohmic heated coconut water and those heated from 5s to 60s at 140°C. Looking at the global evolution of the volatile compounds during the ohmic heating treatment, we could conclude from the PCA classification that the heating stage still preserved the compounds related to fresh notes while the isothermal stage seemed to be more correlated to the predominance of roasted and burnt odor active compounds. The chemical reactions leading to the peak area increase or apparition of these twelve volatile compounds could be on one hand the unsaturated fatty acid peroxydation leading to aldehydes or ketones such as 3-penten-2-one, and on the other hand Strecker degradation (involved in the Maillard reactions system) leading to methional or phenylacetaldehyde. Some of these compounds could negatively impact the immature coconut water aroma with caramel, roasted or even burnt off-odors and off-flavors. Thus, the ohmic treatment at high temperature had the same negative impact as conventional heating method, on the volatile compounds composition of the heated product. However, this negative effect seemed to impact only the samples with severe time-temperature treatments.

Keeping in mind that we previously showed that POD inactivation was obtained below the isothermal stage for the highest temperature, we tried to reach the best arrangement between POD inactivation and volatile compounds preservation. An additional compulsory constraint in coconut water stabilization was to achieve commercial sterility. We therefore sorted the treated coconut water samples which exhibited total POD inactivation and had a sterilization value F_0 higher than 3 min ($n=13$) and compared them to the untreated one. After doing a PCA on the set of ohmic treated data based on the 12 previous selected volatile compounds, the untreated coconut water sample was projected into the same dimensionally-reduced space (Fig.5). This projection showed that the untreated sample was placed close to

the experimental points with the ohmic treatments of 5s and 10s at 140°C, suggesting that high temperature had less effect on the volatile compounds composition.

In fact, within the twelve individual compounds chosen for the PCA analysis, the main variations (highest raw data relative standard deviation and highest PCA loadings) came from 3-penten-2-one, ethyloctanoate, and 2-acetylthiazole. Plotting their standardized peak area for the experimental points which had F_0 value higher than 3 min (Fig.6) confirmed the lowest “distance” between untreated coconut water and the points at 5s and 10s 140°C ($F_0=10.7$ min and 13.5 min respectively).

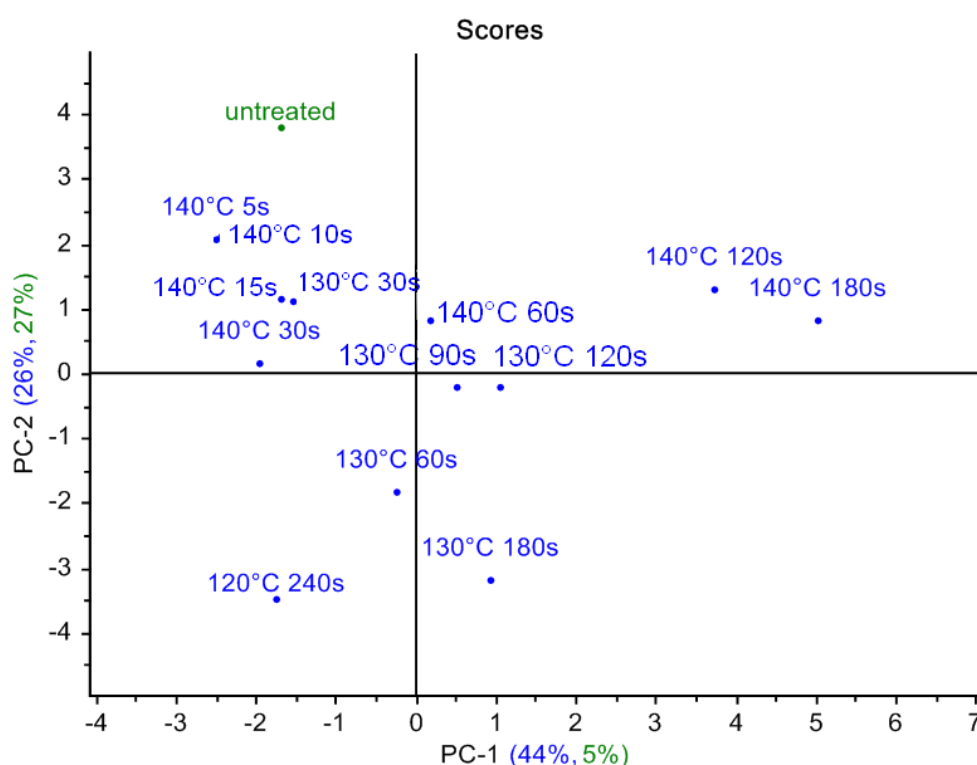


Figure 5. Projection of the untreated coconut water sample into the PCA model built with the 13 treated ohmic samples with F_0 value higher than 3 min and POD total inactivation

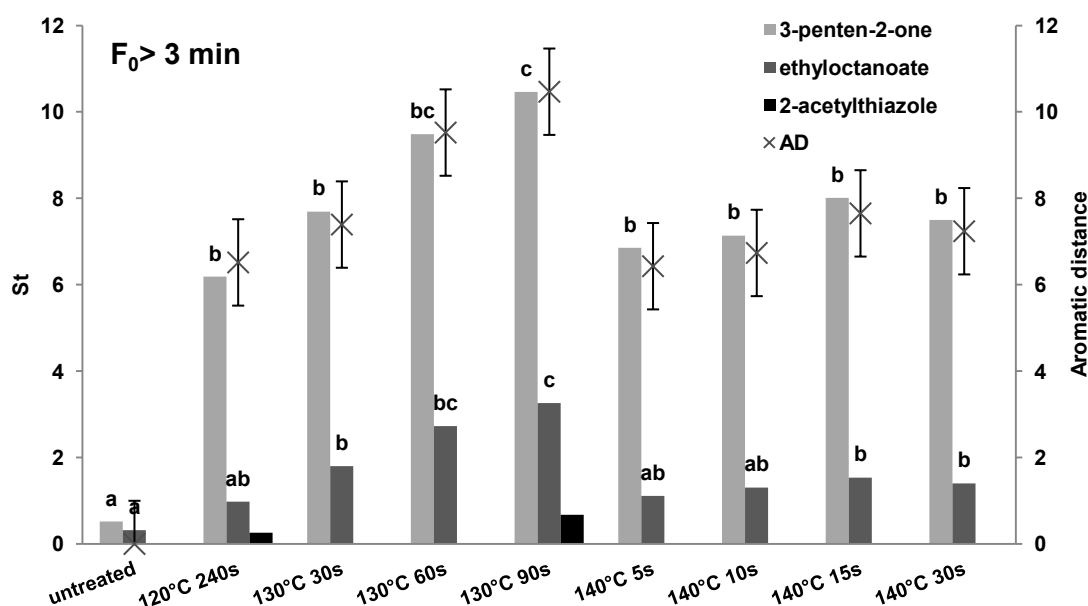


Figure 6. Standardized GC peak area of 3-penten-2-one, ethyloctanoate and 2-acetylthiazole and aromatic distance of ohmic treated coconut water samples with F_0 value higher than 3 min and POD total inactivation. The error bars are the confidence interval at 95%. Two different letters indicate a significant difference at the level of 5%

Even at lower F_0 values: 3.2 min for 240s at 120°C and 3.8 min for 30s at 130°C, the standardized peak areas of 3-penten-2-one, ethyloctanoate were significantly different from the untreated sample. The presence of 2-acetylthiazole emphasized the difference between untreated and ohmic heating at 120°C of immature coconut water. None of the Strecker degradation molecules (methional, furfural) was detected in the GC analysis of the coconut water after ohmic treatments of 5s or 10s at 140°C. As can be seen on Fig.6, aromatic distance was increasing with isothermal stage duration at 130°C but not at 140°C. For similar F_0 values, AD was significantly higher at 90s 130°C ($F_0=12.6$ min) than at 10s 140°C ($F_0=13.5$ min). Aromatic distance was also highly correlated with 3-penten-2-one standardized peak area variations. This ketone molecule probably issued from the fatty acid oxydation showed the most important peak variation levels during batch ohmic treatment of immature coconut water. Therefore, 3-penten-2-one, and ethyloctanoate, might become good candidates for quality assessment of coconut water during ohmic heating. A kinetic study approach would yet probably give us more information on the suggested molecules behavior during ohmic heating and would assess their efficiency as quality markers.

These results were in accordance with previous studies on the impact of thermal treatment on aromatic compounds (Leizeron and Shimoni, 2005). High temperatures ensure

better quality products after sterilization because they are supposed to induce fewer chemical reactions, resulting in better retention of the original volatile compounds.

Conclusion

Preserving immature coconut water natural quality, that is stopping POD enzyme action while ensuring consumer safety, implies to sterilize it with short time high temperature processes. To overcome the problem of overheating classically encountered with conventional sterilization processes, an ohmic heating technology was tested for coconut water stabilization. POD inactivation was successful at any of the chosen temperature range (100°C to 140°C) and its kinetic was well described by a Weibull model. The variations of the volatile compounds composition and levels during ohmic treatment confirmed that the higher the temperature is, the less the impact on the chemical reactions thus on the flavor quality. At least two volatile molecules were apparently good indicators of the heating treatment level. These results demonstrated the efficiency of the volumetric HTST technology to inactivate enzymes and obtain commercial sterility without overheating immature coconut water. Further studies are needed at lowest temperature and maybe in model solutions to better understand the POD inactivation mechanism under ohmic conditions. Moreover, other quality criteria such as soluble sugars or minerals have to be taken into account to get a full study of the ohmic heating impact on coconut water quality.

Acknowledgements

We are grateful to Sonia Bouquet for her technical help and to Remy Marcouire for the pilot device implementation.

References

- Anith, K. N. (2009). Mature coconut as a bio-fermentor for multiplication of plant growth promoting rhizobacteria. *Current Science*, 97(11), 1647-1653.
- Aragao, G. M. F., Corradini, M. G., Normand, M. D., & Peleg, M. (2007). Evaluation of the Weibull and log normal distribution functions as survival models of *Escherichia coli* under isothermal and non isothermal conditions. *International Journal of Food Microbiology*, 119(3), 243-257.
- Ben-Lalli, A., Meot, J. M., Collignan, A., & Bohuon, P. (2011). Modelling heat-disinfestation of dried fruits on "biological model" larvae *Ephestia kuehniella* (Zeller). *Food Research International*, 44(1), 156-166.

- Boekel, M. A. J. S. v. (2002). On the use of the Weibull model to describe thermal inactivation of microbial vegetative cells. *International Journal of Food Microbiology*, 74(1/2), 139-159.
- Boekel, M. A. J. S. v. (2009). Kinetic modeling of reactions in foods. Boca Raton, USA: CRC Press.
- Campos, C. F., Souza, P. E. A., Coelho, J. V., & Gloria, M. B. A. (1996). Chemical composition, enzyme activity and effect of enzyme inactivation on flavor quality of green coconut water. *Philippine Journal of Coconut Studies*, 20(6), 487-500.
- Castro, I., Macedo, B., Teixeira, J. A., & Vicente, A. A. (2004). The Effect of Electric Field on Important Food-processing Enzymes: Comparison of Inactivation Kinetics under Conventional and Ohmic Heating. *Journal of Food Science*, 69(9), C696-C701.
- Cissé, M., Vaillant, F., Bouquet, S., Pallet, D., Lutin, F., Reynes, M., & Dornier, M. (2011). Athermal concentration by osmotic evaporation of roselle extract, apple and grape juices and impact on quality. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 12(3), 352-360.
- Colahan-Sederstrom, P. M., & Peterson, D. G. (2005). Inhibition of key aroma compound generated during ultrahigh-temperature processing of bovine milk via epicatechin addition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(2), 398-402.
- Corradini, M. G., & Peleg, M. (2004). A model of non-isothermal degradation of nutrients, pigments and enzymes. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84(3), 217-226.
- Costa, L. M. C., Maia, G. A., Costa, J. M. C., Figueiredo, R. W., de, & Souza, P. H. M., de. (2005). Evaluation of coconut water obtained by different methods of conservation - Avaliacao de agua-de-coco obtida por diferentes metodos de conservacao. *Ciencia e Agrotecnologia (Brazil)*, 29(6), 1239-1247.
- Duarte, A. C. P., Coelho, M. A. Z., & Leite, S. G. F. (2002). Identification of peroxidase and tyrosinase in green coconut water. *Ciencia y Tecnologia Alimentaria*, 3(5), 266-270.
- Fox, P. F. (1991). Food enzymology. Volume 1, UK. Elsevier Science Publishers Ltd.
- Goullieux, A., & Pain, J. P. (2005). Ohmic heating. In: Sun, D. W. Emerging technologies for food processing pp. 469-506: Academic Press, Elsevier Ltd.
- Icier, F., Yildiz, H., & Baysal, T. (2006). Peroxidase inactivation and colour changes during ohmic blanching of pea puree. *Journal of Food Engineering*, 74(3), 424-429.
- Jakób, A., Bryjak, J., Wójtowicz, H., Illeová, V., Annus, J., & Polakovic, M. (2010). Inactivation kinetics of food enzymes during ohmic heating. *Food Chemistry*, 123(2), 369-376.

- Kwiatkowski, A., Clemente, E., Scarcelli, A., & Batista, V. (2008). Quality of coconut water 'in natura' belonging to Green Dwarf fruit variety in different stages of development, in plantation on the northwest area of Parana, Brazil. *International journal of food agriculture and environment*, 6(1), 102-105.
- Lau, M. H., Tang, J., Taub, I. A., Yang, T. C. S., Edwards, C. G., & Mao, R. (2003). Kinetics of chemical marker formation in whey protein gels for studying microwave sterilization. *Journal of Food Engineering*, 60(4), 397-405.
- Lee, T. H., Chua, L. S., Tan, E. T. T., Yeong, C., Lim, C. C., Ooi, S. Y., Aziz, R. B., Aziz, A. B., & bin Sarmidi, M. R. (2009). Kinetics of Thermal Inactivation of Peroxidases and Polyphenol Oxidase in Pineapple (*Ananas comosus*). *Food Science and Biotechnology*, 18(3), 661-666.
- Leizerson, S., & Shimoni, E. (2005a). Effect of ultrahigh-temperature continuous ohmic heating treatment on fresh orange juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(9), 3519-3524.
- Leizerson, S., & Shimoni, E. (2005b). Stability and sensory shelf life of orange juice pasteurized by continuous ohmic heating. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(10), 4012-4018.
- Lozano, P. R., Drake, M., Benitez, D., & Cadwallader, K. R. (2007). Instrumental and sensory characterization of heat-induced odorants in aseptically packaged soy milk. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(8), 3018-3026.
- Matsui, K., N, Gut, J., A, W, Oliveira, P., V, de, & Tadini, C., C. (2008). Inactivation kinetics of polyphenol oxidase and peroxidase in green coconut water by microwave processing. *Journal of Food Engineering*, 88(2), 169-176.
- Murasaki-Aliberti, N. D., da Silva, R. M. S., Gut, J. A. W., & Tadini, C. C. (2009). Thermal inactivation of polyphenoloxidase and peroxidase in green coconut (*Cocos nucifera*) water. *International Journal of Food Science and Technology*, 44(12), 2662-2668.
- Perez-Cacho, P. R., & Rouseff, R. (2008). Processing and Storage Effects on Orange Juice Aroma: A Review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(21), 9785-9796.
- Prades, A., Assa, R. R., Dornier, M., Pain, J. P., & Boulanger, R. (submitted 2011). Characterization of the coconut water volatile profile of five varieties at three stages of maturity using HS-SPME-GC analysis. *Journal of the Science of Food and Agriculture*.
- Prades, A., Dornier, M., Diop, N., & Pain, J. P. (2012a). Coconut water: its uses, properties and composition. Part I. *Fruits*, 67(2).

- Prades, A., Dornier, M., Diop, N., & Pain, J. P. (2012b). Coconut water: its preservation and processing. Part II. *Fruits*, 67(3).
- Roux, S., Courel, M., Ait-Ameur, L., Birlouez-Aragon, I. B., & Pain, J. P. (2009). Kinetics of Maillard reactions in model infant formula during UHT treatment using a static batch ohmic heater. *Dairy Science & Technology*, 89(3-4), 349-362.
- Roux, S., Courel, M., Picart-Palmade, L., & Pain, J.-P. (2010). Design of an ohmic reactor to study the kinetics of thermal reactions in liquid products. *Journal of Food Engineering*, 98(4), 398-407.
- Terefe, N. S., Yang, Y. H., Knoerzer, K., Buckow, R., & Versteeg, C. (2010). High pressure and thermal inactivation kinetics of polyphenol oxidase and peroxidase in strawberry puree. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 11(1), 52-60.
- Thongsook, T., Whitaker, J. R., Smith, G. M., & Barrett, D. M. (2007). Reactivation of broccoli peroxidases: Structural changes of partially denatured isoenzymes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(3), 1009-1018.
- Wilkens, W. F., & Lin, F. M. (1970). Gas chromatographic and mass spectral analyses of soybean milk volatiles. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 18(3), 333-336.

IV.3.3. - Résultats complémentaires - Impact du chauffage ohmique sur la qualité de l'eau de coco

IV.3.3.1. - Cinétique d'évolution des composés aromatiques

Parmi les classes chimiques de composés volatils, la classe des cétones subit les modifications les plus importantes durant le chauffage ohmique. Parmi les composés aromatiques de l'eau de coco proposé comme marqueur thermique dans la publication, se trouve la 3-penten-2-one de la famille des cétones. Cette molécule est présente dans le produit non traité et son aire normalisée mesurée par HS-SPME/GC-MS augmente en fonction du temps et de la température lors du traitement ohmique (Figure 38). Elle a donc fait l'objet d'une étude particulière.

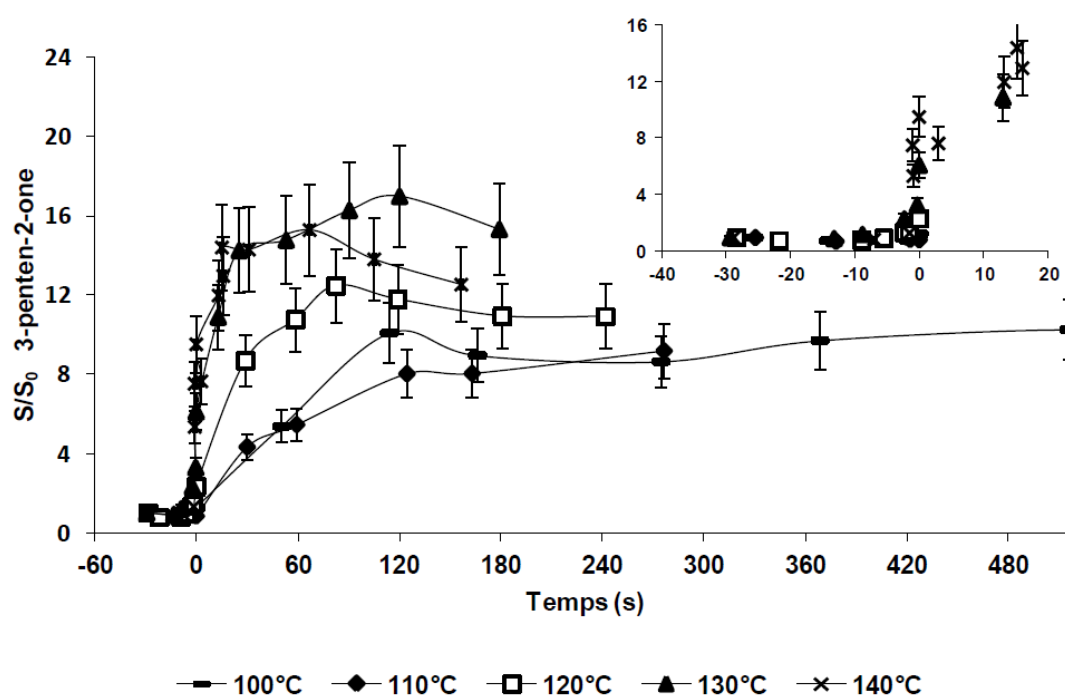


Figure 38. Cinétique de formation de la 3-penten-2-one au cours du chauffage ohmique de l'eau de coco immature

L'évolution de l'aire normalisée du pic de la 3-penten-2-one montre que ce composé n'est pas détruit mais se forme au cours du chauffage ohmique du produit. Cette cétone est présente dans le produit à t_0 . Durant la phase de montée en température d'une durée de 30 secondes, aucune variation significative de son aire normalisée (ou aire résiduelle) n'est observée. Le phénomène de formation de la molécule démarre très rapidement dès le début de

la phase isotherme pour atteindre une valeur maximale au bout de 30 à 120 s selon les températures. Plus la température de la phase isotherme est élevée, plus la formation de 3-pentèn-2-one est importante. Pour les températures de 130 et 140°C, on observe une diminution de l'aire normalisée de la cétone volatile qui serait soit détruite par une trop longue exposition à la chaleur, soit consommée par une autre réaction chimique pour former d'autres composés.

La formation de la cétone présente les phases caractéristiques du développement d'une réaction chimique. Une première phase exponentielle de formation du composé où la vitesse est maximale, une seconde phase de ralentissement de la formation du composé lorsque le milieu commence à s'appauvrir en substrats de la réaction, un plateau lorsque la vitesse de réaction est nulle (tous les substrats sont épuisés et le produit de la réaction est stable), une phase de déclin lorsque le produit est détruit par la prolongation du palier thermique ou qu'il est consommé par une réaction d'un autre type (réactions en chaîne).

Ce schéma classique d'apparition, de formation d'un composé peut se modéliser par une équation d'ordre 1 dont le coefficient suit la loi d'Arrhenius. Nous avons donc appliqué la démarche habituelle qui consiste à calculer une énergie d'activation E_a ($\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$) à partir de la pente de la droite $\ln(k) = f(1/T)$ où k est le coefficient de vitesse (s^{-1}) de la réaction à la température $T(\text{K})$. Nous obtenons ainsi une énergie d'activation de formation de la 3-pentèn-2-one de $67,7 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$. Cette valeur est du même ordre de grandeur que l'énergie d'activation de la formation de la 2-acétyl-thiazoline : $57,4 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$, une molécule volatile formée au cours du chauffage d'une solution aqueuse de cystéine et méthylglyoxal (Hofmann et Schieberle, 1995).

IV.3.3.2. - Impact sur les sucres solubles

La composition en sucres solubles de l'eau de coco a été suivie au cours du traitement par chauffage ohmique. L'analyse par HPIC a montré que la composition en sucres de l'eau de coco ne change pas au cours du temps. Les sucres et polyols solubles présents sont toujours le sorbitol, glucose, fructose et saccharose. Le suivi de leurs concentrations résiduelles dans l'eau de coco (concentration au temps t divisé par la concentration au temps t_0 du traitement) a permis d'observer certaines variations dans le comportement des molécules à différentes températures (Figure 39).

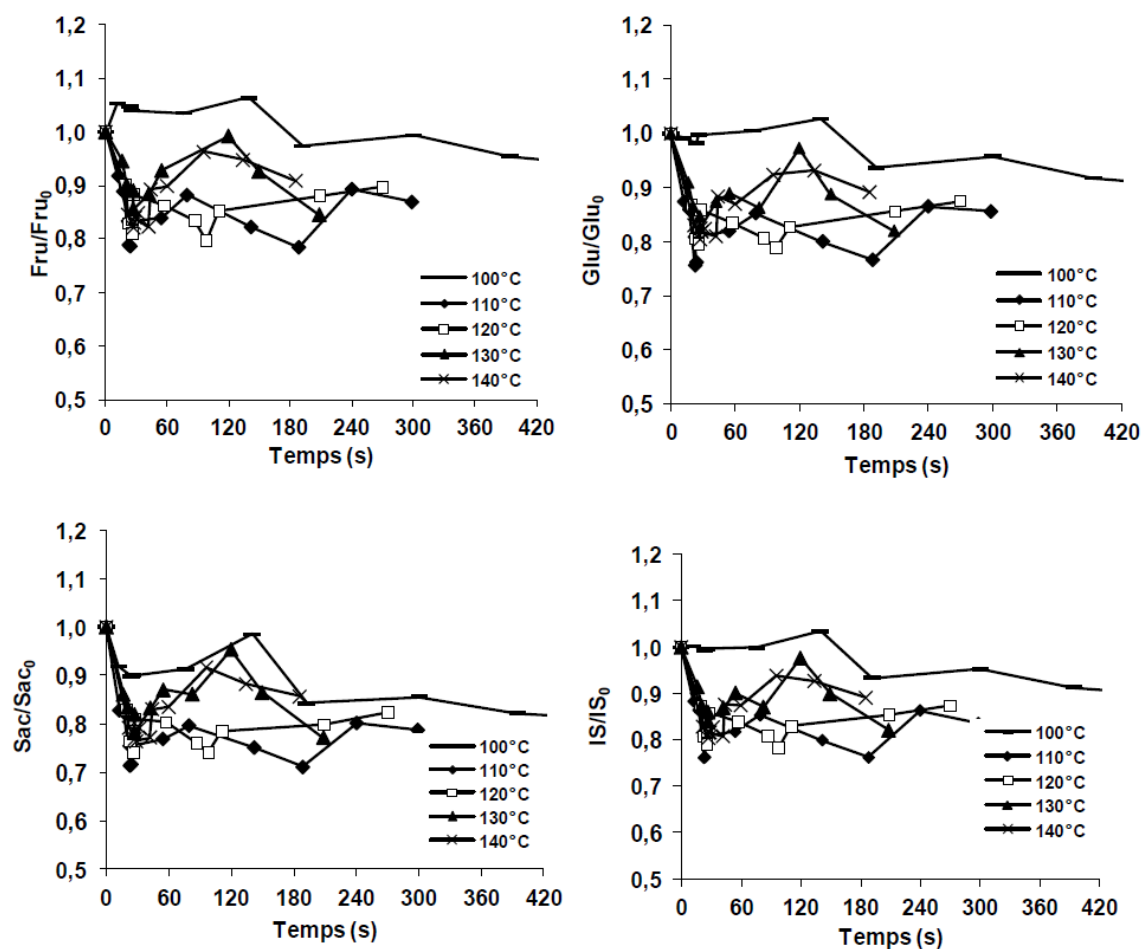


Figure 39. Evolution des teneurs en sucres solubles (Fru = fructose, Glu = glucose, Sac = saccharose) et de l'indice de saveur sucrée (IS) résiduels au cours du chauffage ohmique de l'eau de coco immature (phase de montée en température comprise : t_0 de la phase isotherme à 26 ± 2 s)

L'évolution des monosaccharides (fructose et glucose) semble se distinguer de l'évolution du saccharose lorsque l'on traite de l'eau de coco par chauffage ohmique à 100°C. A cette température, les concentrations en fructose et glucose ne présentent pas de diminution significative par rapport à l'eau de coco native durant les 120 premières secondes de traitement. Lorsque le traitement thermique a pour cible des températures isothermes supérieures à 100°C, on observe une diminution de la concentration résiduelle en monosaccharides dès la phase de montée en température. La concentration résiduelle se stabilise ensuite durant la phase isotherme autour d'une valeur de 0,85. Les pertes en fructose

et glucose sont donc estimées en moyenne à 15% pour des solutions d'eau de coco immature traitées par chauffage ohmique à des températures comprises entre 110 et 140°C.

La relative stabilité du glucose à des températures inférieures à 100°C a déjà été notée par Shapira *et al.*, 2007 et Huang *et al.*, 2011. Les premiers ont étudié la dégradation du glucose dans des solutions de dialyse péritonéale lors d'une stérilisation par chauffage ohmique et d'une stérilisation conventionnelle. Ils ont démontré l'avantage du premier procédé, celui-ci permettant d'améliorer fortement l'innocuité des solutions de dialyse en évitant la formation de molécules indésirables du type glyoxal, méthylglyoxal ou encore 5-hydroxyméthyl furaldéhyde (5-HMF) à des températures inférieures à 125°C. Les seconds ont prouvé l'absence de formation de furanes lorsque des solutions modèles de glucose, saccharose, lactose et amidon sont chauffées à 100°C pendant 2 heures. Sans avoir suivi la formation de ces molécules au cours du traitement ohmique de l'eau de coco, la stabilité des concentrations résiduelles en fructose et glucose observée à 100°C tend à conforter ces précédentes observations.

Contrairement aux concentrations des monosaccharides, la concentration résiduelle en saccharose présente des évolutions similaires à toutes les températures. Dès la phase de montée en température (t compris entre 0 et 26 secondes), on observe une légère diminution de la concentration résiduelle en saccharose mais cette différence n'est pas significative. La concentration en saccharose diminue de $12,1 \pm 1,2 \text{ g.L}^{-1}$ à t_0 à une moyenne de $9,7 \pm 1,2 \text{ g.L}^{-1}$ à t_f pour les températures et durées de traitement les plus sévères. L'indice de saveur sucrée, n'évolue pas pendant les 120 premières secondes du traitement à 100°C mais ne présente pas non plus de différence significative entre sa valeur initiale et sa valeur à chaque instant t du traitement.

Ainsi, la composition et la concentration en sucres et polyols solubles de l'eau de coco ne varient pas de façon significative au cours du traitement par chauffage ohmique, quelle que soit la température. La diminution de 10 à 20% des concentrations résiduelles en mono et disaccharides n'a pas d'impact significatif sur l'indice de saveur sucrée. Il semblerait néanmoins qu'une température de traitement de 100°C préserve mieux le fructose et le glucose.

IV.3.3.3. - Impact sur l'ESS, l'acidité titrable et les sels minéraux

L'extrait sec soluble de l'eau de coco immature est composé en majeure partie de sucres solubles. Il n'est donc pas surprenant, étant donné les résultats présentés dans le paragraphe précédent, d'observer des différences non significatives lorsque l'on compare l'ESS d'eau de coco non traitée avec celui d'eau de coco traitée thermiquement (Tableau 9).

L'acidité titrable, en revanche, augmente de façon significative avant et après traitement de l'eau de coco immature. Le développement de réactions chimiques nombreuses conduisant à la formation de molécules volatiles, molécules dont la présence a été observée lors de l'étude de l'impact du traitement ohmique sur le profil aromatique de l'eau de coco, contribue à la modification de la composition biochimique du produit. Sans être significative ou sans être détectée, la dégradation d'une petite partie des sucres en molécules de type furanes s'accompagne de la formation d'acide acétique ou formique (Limacher *et al.*, 2008). L'accumulation de ces acides pourrait participer à l'augmentation de l'acidité titrable de l'eau de coco en fin de traitement.

Tableau 9. Extrait sec soluble et acidité titrable de l'eau de coco immature du lot CO avant et après traitement par chauffage ohmique

	ESS (g.kg ⁻¹)	TA (mEq.L ⁻¹)
eau de coco non traitée	61 ^a	5,6 ^a
100°C 600 s	58 ^a	10,0 ^b
110°C 300 s	59 ^a	7,5 ^a
120°C 240 s	60 ^a	10,0 ^b
130°C 180 s	60 ^a	10,0 ^b
140°C 180 s	60 ^a	10,0 ^b

Des lettres différentes dans une même colonne indiquent des valeurs différentes au seuil de 5%.

Les sels minéraux sont des éléments importants de la qualité de l'eau de coco. Ils participent à son équilibre électrolytique, propriété sur laquelle serait fondée sa réputation de liquide isotonique. Il est donc indispensable de vérifier que la composition en sels minéraux de l'eau de coco n'est pas modifiée par le traitement de chauffage ohmique ; ceci d'autant plus que le chauffage ohmique fait appel à l'effet Joule. Il pourrait y avoir des doutes sur le devenir des sels minéraux, composés polaires, lors de la mise en œuvre des champs électriques. Le tableau 10 indique que la composition et la concentration en sels minéraux de l'eau de coco n'est pas modifiée lors du traitement par chauffage ohmique.

Tableau 10. Concentration en sels minéraux de l'eau de coco du lot CO avant et après traitement par chauffage ohmique (mg.L⁻¹)

	K	Mg	Na	Ca	P
eau de coco non traitée	2,28	0,19	0,17	0,15	0,14
100°C 600 s	2,18	0,18	0,16	0,14	0,13
110°C 180 s	2,08	0,17	0,16	0,14	0,12
120°C 90 s	2,12	0,17	0,16	0,14	0,12
130°C 60 s	2,22	0,18	0,17	0,14	0,12
140°C 30 s	2,19	0,18	0,17	0,14	0,13

IV.3.4. - Conclusion partielle

Dans le cadre des essais réalisés dans le réacteur batch de chauffage ohmique, le traitement de l'eau de coco immature s'est montré particulièrement efficace pour inactiver les enzymes de type peroxydase. Dans notre cas, le phénomène d'inactivation se déroule essentiellement dans la phase non isotherme du traitement, c'est-à-dire la phase de montée en température. Des durées de chauffage en phase isotherme de 32 s à 100°C, 17 s à 110°C, 7 s à 120°C, 1 s à 130°C et 0 s à 140°C sont suffisantes pour éliminer toute activité de type POD. Parmi ces barèmes temps-température, seuls les deux derniers présentent des valeurs stérilisatrices suffisantes ($F_0 \geq 3$ min) pour assurer une stérilisation commerciale de l'eau de coco.

Cependant, le phénomène d'inactivation de la POD à haute température par chauffage ohmique observé ne semble pas répondre à un ordre n bien déterminé. L'inactivation de cette enzyme par un traitement de chauffage ohmique est visiblement plus complexe que la simple dégradation d'une molécule en un seul produit ($A \rightarrow B$) ou bien la dégradation de deux isoenzymes (une fraction thermolabile et une fraction thermorésistante) tel que cela a déjà été postulé par Murasaki-Alberti *et al.*, (2009). Il est apparu délicat d'appliquer des équations de cinétique réactionnelle classique sous-tendues par ces hypothèses sur nos résultats. Seul un modèle de Weibull s'est révélé capable de représenter correctement nos données.

Des essais sur le pilote de chauffage ohmique en continu (10 L.h⁻¹), décrit p.116 dans la partie *Matériel et Méthodes*, ont permis de confirmer ces résultats puisqu'une inactivation totale de la POD a pu être obtenue lors d'un traitement d'eau de coco avec un barème de 10 secondes à 138°C.

L'impact du traitement de chauffage ohmique sur la qualité de l'eau de coco immature est relativement faible. L'extrait sec soluble, la composition et les concentrations en sucres

solubles, les concentrations en sels minéraux ne sont pas modifiées de façon significative par le procédé thermique.

Toutefois, comme pour tout procédé mettant en œuvre des variations de température, l'impact du chauffage ohmique sur la structure des composés biochimiques les plus thermosensibles n'est pas négligeable. Le suivi du profil aromatique de l'eau de coco immature au cours du traitement a mis en évidence, pour les barèmes les plus élevés, la présence de composés issus de la dégradation de Strecker, intermédiaires importants de la réaction de Maillard. Pour des barèmes moins élevés, les acides gras libres présents dans l'eau de coco subiraient une oxydation conduisant à des cétones. Parmi ces molécules, la 3-pentèn-2-one représente à elle seule 80% des variations observées. Sa formation au cours du traitement thermique semble répondre à une réaction d'ordre 1 dont l'énergie d'activation a pu être calculée ($67,7 \text{ kJ.mol}^{-1}$). Les notes odorantes sucrées et chaudes apportées par la 3-pentèn-2-one dont la présence est amplifiée par le traitement ohmique, pourraient venir modifier l'arôme subtil de l'eau de coco. La poursuite des travaux dans cette direction devra mobiliser d'autres outils analytiques de type analyse sensorielle et/ou GC-olfactomètre afin de déterminer si oui ou non les modifications des composés volatils observées dans le cadre de cette étude influent sur la perception de l'arôme par le consommateur.

Ainsi, bien qu'efficace en terme d'inactivation enzymatique, l'effet de la température sur les molécules volatiles présentes dans l'eau de coco ne peut être négligé. Il pourrait modifier de façon irréversible la qualité de l'eau de coco et nuire à son acceptabilité auprès des consommateurs avertis. D'autres procédés, opérant à température ambiante, permettent aujourd'hui de stabiliser des produits classés « thermosensibles » : ce sont, entre autres, les traitements membranaires.

IV.4. - Traitement membranaire de l'eau de coco

Les procédés à membranes sont des procédés physiques de séparation. L'ultrafiltration de l'eau de coco a pour but de séparer, sans changement de phase et à température constante, les molécules (enzymes POD et PPO) et les microorganismes responsables de sa dégradation, du reste de ses composés d'intérêts : sucres solubles, polyols, composés d'arômes, sels minéraux. La séparation a lieu sous l'effet d'une faible différence de pression (inférieure à 10 bar) imposée de part et d'autre des membranes sélectives choisies. L'ultrafiltration doit nous permettre de recueillir un perméat libre de microorganismes (en théorie stérile) et d'enzymes POD et PPO qui vont ainsi se retrouver concentrées dans le rétentat. Le produit qui nous intéresse ici est donc bien le perméat correspondant à l'eau de coco clarifiée stérile. La stérilité est obtenue de fait puisque les diamètres des pores des membranes présélectionnées (10, 20, 50 et 100 nm) ne permettent, en théorie, aucun passage de cellules de type bactéries, levures ou moisissures.

Les essais se sont déroulés en deux temps :

- la première série d'essais avait pour objectif de sélectionner la membrane d'ultrafiltration répondant à notre critère de sélection majeur : rétention totale des enzymes POD et PPO ;
- la deuxième série d'essais exploratoires a permis de tester la membrane sélectionnée en mode concentration, c'est-à-dire de simuler des conditions d'utilisation en industrie.

IV.4.1. - Caractéristiques des lots d'eau de coco traitée

Le lot TM1 d'eau de coco préparé pour les premiers essais d'ultrafiltration provient d'un ensemble de trente deux noix de coco immatures partiellement débourrées de la variété Nain Vert de Thaïlande (Thailand Green Aromatic Dwarf) préparées par la Société Cock (Bangkok, Thaïlande) et importées en frais (+4°C) par avion par la société POMONA (Marseille, France). Le lot TM2 a été utilisé pour la seconde série d'essais en mode concentration. L'eau de coco provient de noix de coco récoltées sur des cocotiers Nain Vert de « Jequi », du nom d'une région du Brésil. Cette variété a été spécialement développée pour la transformation en boisson par l'Empresa de Pesquisa Agropecuária do Rio Grande do Norte (EMPARN), et l'Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA). Vingt huit litres d'eau de coco immature ont été collectés dans une usine de production de boissons à base

d'eau de coco au Brésil. L'eau de coco a été mise en sachets protecteurs thermosoudés, congelée à -20°C puis transportée par avion. Arrivée au Cirad, l'eau de coco a été stockée à -20°C jusqu'aux essais. Les caractéristiques de ces deux lots sont présentées dans le tableau 11.

Tableau 11. Caractéristiques des lots d'eau de coco TM1 et TM2

	Lot TM1	Lot TM2
Origine	Thaïlande	Brésil
Variété	Nain Vert Aromatique	Nain Vert du "Jequi"
Poids de l'eau de coco (kg) par noix	0,3197 ± 0,0320	nd
Pourcentage massique d'eau par noix (%)	32 ± 3	nd
pH	6,2 ± 0,1 ^a	4,8 ± 0,1 ^b
Conductivité électrique (S.m⁻¹)	0,798 ± 0,001 ^a	0,503 ± 0,001 ^b
O₂ dissous à 20 °C (mg .L⁻¹)	4,5 ± 0,1 ^a	3,5 ± 0,1 ^b
ESS (g.kg⁻¹)	68 ± 1 ^a	44 ± 2 ^b
Sucres solubles totaux (g.L⁻¹)	62,5 ± 11,9 ^a	38,1 ± 6,3 ^b
Sorbitol (g.L⁻¹)	0,6 ± 0,1 ^a	0,03 ± 0,01 ^b
Saccharose (g.L⁻¹)	13,0 ± 2,2 ^a	0,6 ± 0,1 ^b
Fructose (g.L⁻¹)	21,6 ± 4,1 ^a	18,0 ± 2,9 ^a
Glucose (g.L⁻¹)	27,0 ± 5,4 ^a	19,4 ± 3,2 ^a
Indice de saveur sucrée	60,1 ± 11,6 ^a	37,8 ± 6,2 ^b
Acidité titrable (mEq.L⁻¹)	6,2 ± 0,1 ^a	8,1 ± 0,2 ^b
Activité POD (U.mL⁻¹)	125,7 ± 16,8 ^a	1,4 ± 0,1 ^b
Activité PPO (U.mL⁻¹)	13,3 ± 2,3 ^a	10,4 ± 2,1 ^a
Ratio PPO/POD	0,11 ^a	7,43 ^b

nd = information non disponible

Les lots TM1 et TM2 présentent plusieurs caractéristiques significativement différentes. En général, les valeurs observées sur l'eau de coco des noix de Thaïlande sont plus élevées que celles de l'eau de coco des noix de Brésil. Les pH, conductivité électrique, concentration en oxygène dissous sont plus élevés sur le lot TM1 que sur le lot TM2. De même, l'ESS du lot TM1 est 1,5 fois plus élevé que celui du lot TM2. Il est constitué à 92% par les sucres solubles et polyols alors que ces derniers ne participent à l'ESS du lot TM2 qu'à la hauteur de 86,5%.

La concentration en sucres solubles totaux et l'indice de saveur sucrée de l'eau des noix de Thaïlande sont 1,6 fois celles de l'eau des noix du Brésil. La concentration en saccharose est exceptionnellement faible ($0,6 \text{ g.L}^{-1}$) pour une eau de coco immature et ne représente que 1,5% de la concentration en sucres solubles totaux. Glucose et fructose constituent, chacun pour moitié, 98% des sucres solubles. En corollaire à ces concentrations en sucres faibles, l'acidité titrable est un peu plus élevée dans le lot TM2, ce qui, si l'on imagine déguster ce produit en l'état, sera en défaveur de son rapport sucres/acides dont on sait qu'il joue un rôle important dans la perception sensorielle (Colaric *et al.*, 2005).

L'activité POD du lot TM1 est 90 fois plus élevée que celle du lot TM2 alors que les valeurs d'activités PPO sont équivalentes. De telles différences ont déjà été observées et décrites au paragraphe *IV.1.2.* page 133 de la partie *Résultats et Discussion*. Elles ne sont pas surprenantes et font partie de la variabilité naturelle des eaux de coco. L'activité POD serait reliée notamment au stade de maturité à la récolte des noix. L'activité POD du lot TM1 peut également s'être développée après récolte au cours du transport des fruits entre la Thaïlande et l'Europe. Si on suppose que la composition biochimique de l'eau, dans le fruit, continue d'évoluer lors de ses stockages entre $+4^{\circ}\text{C}$ et $+14^{\circ}\text{C}$. Le lot TM2 a, quant à lui, été préparé à partir de fruits fraîchement récoltés et n'a donc pas eu le temps de développer cette activité enzymatique. Ces différences de niveaux d'activité enzymatique pourraient cependant devenir gênantes en cas d'assemblage de différents lots d'eaux de coco de provenance, variétés ou stades de maturité différents. Il deviendrait difficile de prédire les caractéristiques de la matière première avant transformation et donc délicat de régler les paramètres d'un procédé.

Un des objectifs de ces travaux est d'étudier l'impact du procédé d'ultrafiltration sur la qualité du produit et plus spécifiquement sur les composés volatils. La figure 40 présente les chromatogrammes en phase gazeuse après microextraction en phase solide des composés de l'espace de tête de l'eau de coco.

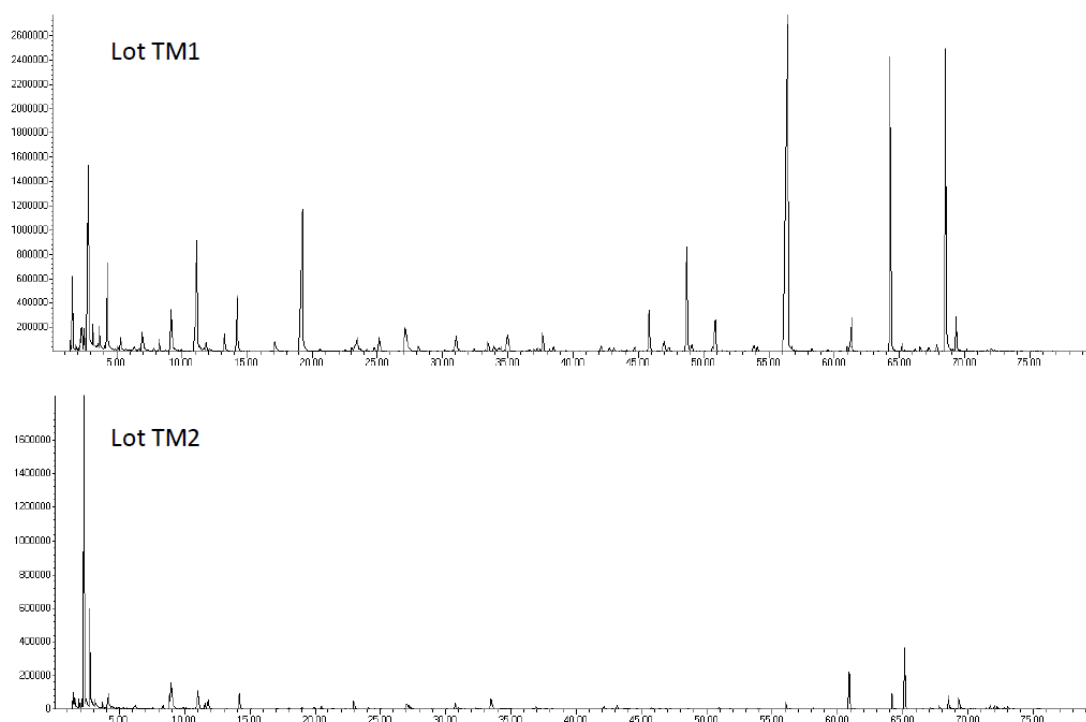


Figure 40. Chromatogrammes en phase gazeuse de l'eau de coco des lots TM1 (NVT Thaïlande) et TM2 (NVJe du Brésil) après microextraction en phase solide des composés volatils

Le nombre de composés volatils détectés dans l'eau de coco du lot TM1 est en moyenne de 130, parmi lesquels 40 sont identifiés avec certitude et ont été présentés dans le « table 4 » du paragraphe IV.1.3. page 159 de la partie *Résultats et Discussion* de ce mémoire. L'eau de coco immature issue du lot TM2 ne présente que 55 composés dont 26 ont été identifiés lors de ces essais. Parmi ces 26 composés, 4 n'étaient pas présents ou n'étaient pas identifiés avec certitude dans le lot TM1, ce sont le propanoate d'éthyle, le butanoate d'éthyle, l'acétophénone et l'acide éthyl-2-hexanoïque.

La figure 41 présente la répartition des composés volatils des lots TM1 et TM2. Comme pour les caractéristiques physico-chimiques, la répartition des familles de composés volatils est extrêmement différente entre les eaux des noix de Thaïlande et celles du Brésil. Les proportions d'acides et d'alcools sont importantes dans le lot TM1 alors que les molécules de type aldéhydes dominent dans le lot TM2. Aucune molécule de type lactone n'a été détectée dans l'eau de coco du lot TM2, qui se distingue également par une proportion de cétones plus élevées que celles du lot TM1. Cette dernière reste tout de même faible puisqu'inférieure à 20%.

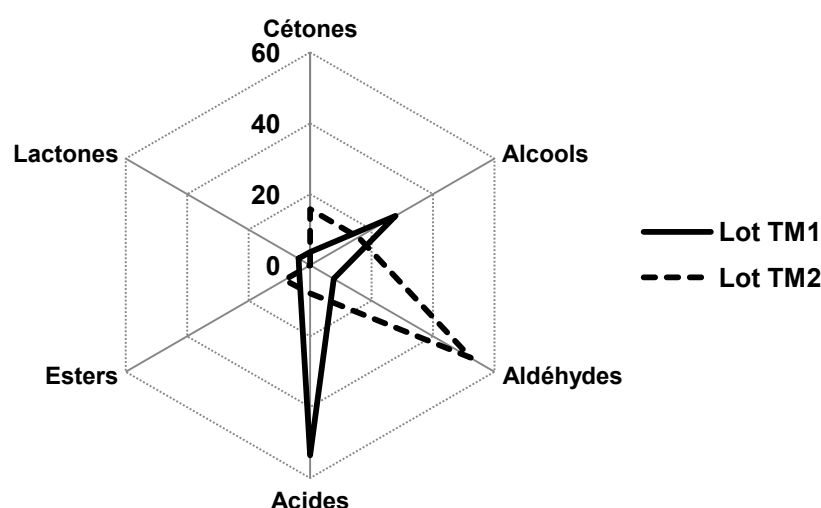


Figure 41. Répartition (en pourcentages calculés sur la base des aires standardisées S_{is}) des composés volatils de l'eau de coco immature des lots TM1 (NVT Thaïlande) et TM2 (NVJe du Brésil)

En conclusion, les analyses physicochimiques et les profils des composés volatils de l'eau de coco en provenance des lots TM1 et TM2 démontrent une différence importante de la qualité de ces deux produits. Cette différence provient probablement de l'effet croisé des variétés, zones de production et stades de maturité à la récolte. Les très faibles teneurs en sucres, l'absence d'activité POD, la présence prononcée d'aldéhydes du lot TM2 et le faible pourcentage de cétones orienteraient, aux vues des résultats de la première partie de ce travail, le classement de ce lot vers un stade de maturité à la récolte ultra-précoce (probablement plus proche de 5 mois que de 7 mois). Ce choix peut parfaitement se justifier en raison d'un volume d'eau de coco maximal pour cette variété à ce stade et d'une activité enzymatique POD inexistante. Le produit étant standardisé en ESS à l'aide de saccharose lors de la transformation industrielle en boisson, les teneurs très faibles en sucres solubles à la récolte ne sont plus rédhibitoires. En revanche, ce stade de récolte ne conviendrait pas à une dégustation en noix à boire pour un marché local en Asie par exemple (Apshara *et al.*, 2007). L'eau de coco du lot TM2 est donc bien adaptée à une transformation industrielle conduisant à des boissons au goût « eau de coco » peu prononcé alors que le produit issu du lot TM1, plus sucré et plus aromatique, répond à une cible de marché différente : la dégustation au naturel, à même la noix.

IV.4.2. - Influence du diamètre de pores des membranes sur la qualité de l'eau de coco

IV.4.2.1. - Evolution de la densité de flux de perméat

Les membranes d'ultrafiltration utilisées lors de ces essais étaient toutes neuves et avaient des diamètres de pores de 10, 20, 50 et 100 nm. Selon le fabricant, les trois dernières membranes sont en oxyde de zirconium (ZrO_2), seule la membrane dont les pores font 10 nm est en oxyde de titane (TiO_2). Elles ont été conditionnées avec plusieurs cycles de lavage acide/base (voir paragraphe III.3.4. de la partie *Matériel et Méthodes*). Les essais n'ont débuté que lorsque la perméabilité à l'eau à 20°C a été considérée comme stable pour toutes les membranes. Selon le fabricant, les membranes d'ultrafiltration de diamètres de pores 10, 20, 50 et 100 nm présentent respectivement une perméabilité à l'eau à 20°C de 60, 300, 800 et 900 $\text{L.h}^{-1}.\text{m}^{-2}.\text{bar}^{-1}$. Les perméabilités à l'eau à 20°C obtenues pour les quatre membranes utilisées lors de nos essais sont respectivement de 20 ± 5 , 192 ± 18 , 321 ± 55 et $409 \pm 87 \text{ L.h}^{-1}.\text{m}^{-2}.\text{bar}^{-1}$. Ces perméabilités constituent les valeurs de référence cibles qui doivent être atteintes après le nettoyage des membranes en fin d'essai.

Quatre essais d'ultrafiltration d'eau de coco ont été réalisés en mode de recyclage total sur le même lot TM1, à une température constante de 30°C et pendant une durée de deux heures. Le mode recyclage total consiste à prélever régulièrement le perméat et à le recycler dans le bac d'alimentation du pilote avec le rétentat. Ainsi, la composition du produit qui alimente le pilote est supposée stable au cours du temps. La pression transmembranaire dans les quatre modules diminue d'une membrane à l'autre en fonction de leurs positions sur le pilote. Les membranes d'ultrafiltration de diamètres de pores 10, 20, 50 et 100 nm fonctionnent respectivement à une pression transmembranaire de 4,0 ; 3,7 ; 3,4 et 3,1 bar.

La figure 42 présente l'évolution de la densité de flux de perméat de l'eau de coco immature en fonction du temps. Les valeurs de flux de chaque membrane correspondent à la moyenne des quatre essais. Les évolutions des densités de flux de perméat des quatre membranes sont similaires et se divisent en trois phases. Une première phase de 10 min durant laquelle les flux de perméat baissent de façon très importante. Durant la seconde phase entre 10 et 40 min, la densité de flux diminue toujours mais moins rapidement. Cette étape correspond à l'établissement de la couche de colmatage. Cette dernière correspond à un film (aussi appelé gâteau ou gel) formé par l'accumulation de matière à la surface des membranes. Elle participe également à la filtration. De 40 à 120 min, la troisième phase voit la densité de flux de perméat se stabiliser.

Cette valeur, caractéristique du couple produit/membrane, reste constante pour une pression transmembranaire, un débit et une température donnés. L'ultrafiltration se déroule alors en régime stationnaire.

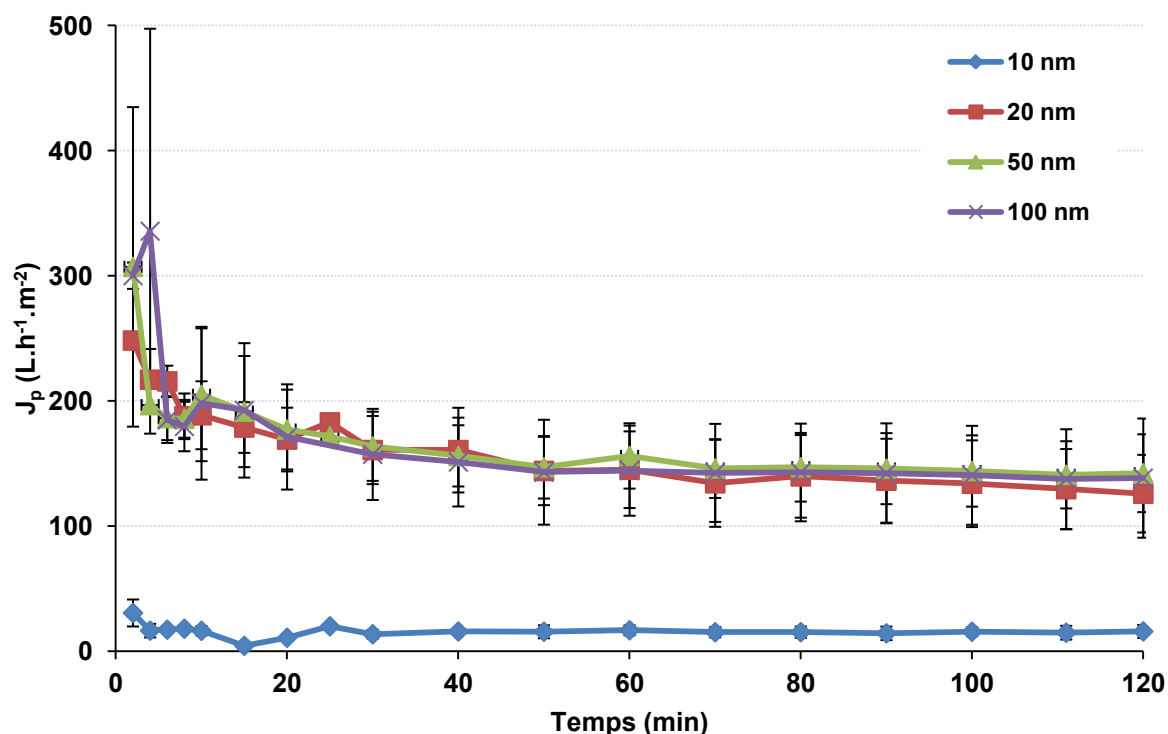


Figure 42. Evolution de la densité de flux de perméat en fonction du temps lors de l'ultrafiltration d'eau de coco immature du lot TM1 à 30°C avec des membranes de diamètre de pores 10, 20, 50 et 100 nm en mode recyclage total (les barres d'erreur sont les écart-types observés sur 4 essais)

La figure 43 vient confirmer qu'aucune différence significative n'est mise en évidence entre les densités de flux de perméat des membranes de 20, 50 et 100 nm lors de ces essais ; alors que la densité de flux de perméat de la membrane de 10 nm est statistiquement inférieure aux trois premières. Cette différence est due à son diamètre de pores plus faibles mais elle est si importante qu'il semble difficile de l'attribuer uniquement à ce facteur. Le matériau constitutif de cette membrane est différent des trois autres et cet élément pourrait, en partie, expliquer ce résultat. Certains composés de l'eau de coco pourraient interagir avec les constituants de la membrane et freiner les transferts de matière. Des études plus poussées sur les interactions entre les constituants de l'eau de coco et le matériau de cette membrane pourraient apporter des réponses à cette question.

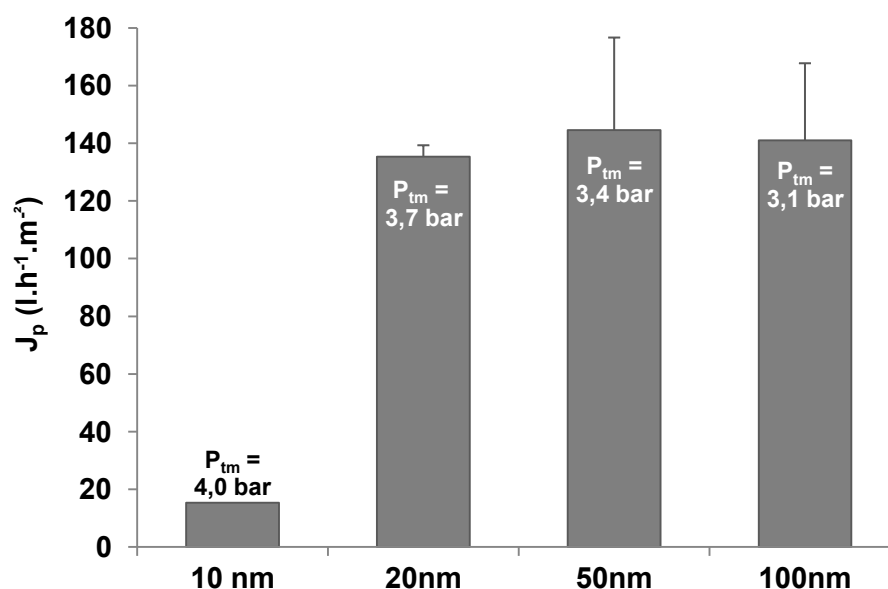


Figure 43. Densité de flux de perméat d'eau de coco du lot TM1 filtrée sur des membranes de diamètre de pores de 10, 20, 50 et 100 nm à 30°C en mode recyclage total

Les densités de flux de perméat équivalentes pour les trois autres membranes (20, 50 et 100 nm) poussent également à s'interroger sur la nature des phénomènes mis en jeu lors de l'ultrafiltration de l'eau de coco immature. En théorie, ces densités de flux de perméat devraient toutes être différentes, étant donné les différences de diamètres de pores entre les membranes. La différence de pression transmembranaire entre la membrane de 20 nm (3,7 bar) et celles des membranes de 50 nm (3,4 bar) et 100 nm (3,1 bar) pourrait être à l'origine des densités de flux relativement faibles de ces deux dernières. La pression transmembranaire diminue en fonction de la position des membranes sur le pilote et les membranes de 50 et 100 nm sont placées en série après la membrane de 20 nm. Un phénomène de colmatage pourrait également expliquer ces résultats. Le colmatage des membranes est systématique en filtration. Il reste complexe à décrire et analyser car il fait intervenir plusieurs phénomènes à la fois. Des phénomènes d'accumulation de matière à la surface des membranes, des phénomènes d'interactions électrochimiques entre composés retenus et membranes, parfois des phénomènes biologiques comme des développements de biofilm sur les membranes liés à la présence de microorganismes. Le colmatage d'une membrane d'ultrafiltration frontale en présence d'eau de coco a été décrit et modélisé par Reddy *et al.*, 2005. Ce modèle ne s'applique toutefois pas à la configuration de notre pilote. Aussi, afin de mieux comprendre le

phénomène impliqué dans nos essais, trois modèles de colmatage issus de la littérature et appliquées en ultrafiltration (Cassano *et al.*, 2008) vont être testés (tableau 12).

Tableau 12. Modèles décrivant l'évolution de la densité de flux en fonction du type de colmatage (*d'après Cassano et al., 2008*)

	Modèle	Linéarisation
1	$J = \frac{J_0}{1+J_0 K t}$ (eq.1)	$\frac{1}{J} = \frac{1}{J_0} + K t$ (eq.2)
2	$J^2 = \frac{J_0^2}{1+J_0^2 K t}$ (eq.3)	$\frac{1}{J^2} = \frac{1}{J_0^2} + K t$ (eq.4)
3	$J = J_0 \exp(-K t)$ (eq.5)	$\ln J = \ln J_0 - K t$ (eq.6)

J ($L.h^{-1}.m^{-2}$) est la densité de flux de perméat au temps t (min), J_0 la densité de flux de perméat au temps t_0 et K la constante de vitesse de colmatage (min^{-1})

Le **modèle 1** prend en compte la formation progressive de la couche superficielle de colmatage qui ne couvre que partiellement la surface filtrante. Il se base sur le fait que les caractéristiques de la membrane sont en grande partie responsables du phénomène de colmatage. Le **modèle 2** prend également en compte la formation de la couche de composés colmatants qui couvre alors la totalité de la surface de la membrane. L'influence des caractéristiques intrinsèques de la membrane est donc moins marquée. Enfin le **modèle 3** est basé sur un phénomène de colmatage total de la surface filtrante et du colmatage additionnel d'une fraction des pores de la membrane. Cette fraction de pores obstrués est proportionnelle au flux de perméat qui traverse la membrane.

Les équations 2, 4 et 6 ont été appliquées à nos données sur la plage de temps des deux heures d'ultrafiltration du lot TM1 à 30°C. Pour chacune des quatre membranes et chacun des modèles, les coefficients de régression des droites ont été calculées et sont présentés dans le tableau 13.

Tableau 13. Coefficients de régression des équations linéarisées des modèles de colmatage établis pour l’ultrafiltration de l’eau de coco immature du lot TM1 sur les membranes de diamètre de pores 10, 20, 50 et 100 nm à 30°C en mode recyclage total

	R ²		
	Modèle 1	Modèle 2	Modèle 3
	1/J	1/J ²	ln(J)
10 nm	0,63	0,64	0,59
20 nm	0,90	0,93	0,86
50 nm	0,77	0,81	0,72
100 nm	0,71	0,76	0,63

Les coefficients de régression des modèles calculés pour la membrane de diamètre de pores 10 nm sont faibles. Ces modèles n’expliquent donc pas l’évolution de la densité de flux observée pour cette membrane lors des essais en recyclage total de l’ultrafiltration d’eau de coco du lot TM1. De plus, les coefficients des modèles 1 et 2, pour cette membrane, sont très proches. La densité de flux très faible observée sur la membrane de diamètre de pores 10 nm (15,3 L.h⁻¹.m⁻²) serait donc vraisemblablement due à la configuration de la couche filtrante de la membrane (mode de fabrication différent) et probablement à son matériau (oxyde de titane) qui est différent des trois autres membranes utilisées.

Les coefficients de régression des modèles sont supérieurs à 0,80 pour les filtrations sur membranes de diamètre de pores 20 et 50 nm (modèle 2 seulement). Pour ces deux membranes, les modèles présentant les coefficients de régression les plus élevés correspondent au modèle 2, basé sur la formation d’une couche de colmatage sur toute la surface de la membrane. Le dépôt d’une couche d’éléments colmatants serait donc à l’origine de l’évolution des densités de flux observées sur ces deux membranes lors de la filtration de l’eau de coco du lot TM1. Les coefficients observés sur la membrane de diamètre de pores de 100 nm restent inférieurs à 0,80, ce qui tendrait à indiquer que les densités de flux ne sont pas expliquées par les modèles proposées. Les densités de flux observées sur cette membrane sont cependant faibles et correspondent probablement à la mise en place d’une couche de colmatage également. Les modèles proposés ne sont pas adaptés aux phénomènes responsables de la mise en place de la couche de colmatage sur cette membrane.

IV.4.2.2. - Influence des diamètres de pores des membranes d'ultrafiltration sur les caractéristiques physico-chimiques de l'eau de coco

Lors des quatre essais d'ultrafiltration du lot TM1, des prélèvements de perméat pour chacune des membranes de diamètres de pores 10, 20, 50 et 100 nm ainsi qu'un prélèvement de rétentat ont été réalisés. Ces échantillons ont été analysés et ces résultats sont comparés aux analyses de l'eau de coco non filtrée, prélevée dans le bac d'alimentation du pilote, juste avant le début de l'expérience.

Le tableau 14 montre que l'ultrafiltration de l'eau de coco immature modifie peu les caractéristiques physico-chimiques principales du produit. Seul l'extrait sec soluble (ESS) est significativement différent dans les perméats, comparativement au rétentat et à l'eau de coco non filtrée. L'ultrafiltration sur la membrane de diamètre de pores 10 nm entraîne une baisse de 12.5% de l'ESS. La baisse n'est que de 6% pour les membranes de diamètres de pores de 20, 50 et 100 nm. L'ESS est identique dans l'eau de coco non filtrée et le rétentat. L'ESS étant constitué à 92% par des sucres solubles et polyols, les taux de rétention des différents sucres solubles et un « taux de rétention » de l'indice de saveur sucrée (IS) ont été calculés. Bien que non significatives, les différences observées entre les perméats et le rétentat indiquent des taux de rétention compris entre 5 et 30% selon les sucres et les membranes (Figure 44). Les taux de rétention sont équivalents pour les mono et disaccharides lors de l'ultrafiltration sur membranes de diamètres de pores 50 et 100 nm. En revanche, il semble que le saccharose, qui est un disaccharide et présente donc un encombrement stérique plus important que le glucose, le fructose ou le sorbitol, ait une tendance à être un peu plus retenu par les membranes de diamètres de pores 20 nm, et surtout 10 nm. Cependant, ce phénomène est très limité et ne conduit pas à la modification de l'indice de saveur sucrée du produit. Cette macromolécule n'est habituellement pas retenue lors de l'ultrafiltration de jus de fruit (Hinkova *et al.*, 2004). Les taux de rétention les plus faibles sont constatés pour la membrane de diamètre de pores 20 nm.

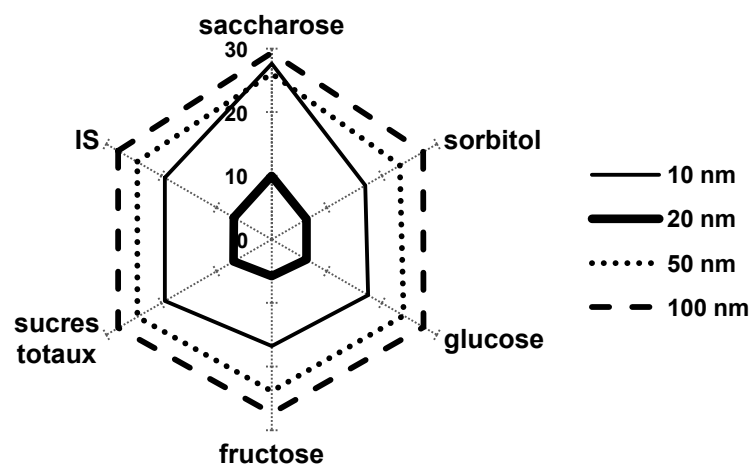


Figure 44. Taux de rétention (%) des sucres solubles, polyols et indice de saveur sucrée de l'eau de coco du lot TM1 après ultrafiltration sur membranes de diamètre de pores de 10, 20, 50 et 100 nm à 30°C en mode recyclage total

Tableau 14. Caractéristiques physicochimiques de l'eau de coco immature (lot TM1) avant et après ultrafiltration sur membranes de diamètre de pores 10, 20, 50 et 100 nm à 30°C en mode recyclage total

	P_{tm} (bar)	4,0	3,7	3,4	3,1	
	Eau coco non filtrée	10 nm	20 nm	50 nm	100 nm	Rétentat
pH	6,27 ± 0,06 ^a	6,22 ± 0,17 ^a	6,31 ± 0,13 ^a	6,32 ± 0,10 ^a	6,32 ± 0,10 ^a	6,33 ± 0,09 ^a
Conductivité électrique (S.m⁻¹)	0,778 ± 0,004 ^a	0,762 ± 0,001 ^b	0,768 ± 0,007 ^a	0,768 ± 0,008 ^a	0,766 ± 0,011 ^a	0,780 ± 0,010 ^a
O₂ dissous à 20°C (mg .L⁻¹)	3,43 ± 0,44 ^a	3,50 ± 0,14 ^a	3,38 ± 0,65 ^a	3,40 ± 0,37 ^a	3,38 ± 0,26 ^a	3,38 ± 0,54 ^a
ESS (g.kg⁻¹)	64,0 ± 0,0 ^a	56,0 ± 0,8 ^b	60,8 ± 0,9 ^c	60,8 ± 0,9 ^c	60,8 ± 0,9 ^c	64,0 ± 0,8 ^a
Sucres solubles totaux (g.L⁻¹)	58,6 ± 11,9 ^a	49,5 ± 14,4 ^a	56,9 ± 9,1 ^a	47,8 ± 5,5 ^a	46,2 ± 9,9 ^a	58,5 ± 22,7 ^a
Sorbitol (g.L⁻¹)	0,54 ± 0,17 ^a	0,47 ± 0,14 ^a	0,52 ± 0,09 ^a	0,44 ± 0,05 ^a	0,42 ± 0,21 ^a	0,54 ± 0,21 ^a
Saccharose (g.L⁻¹)	12,3 ± 2,1 ^a	9,4 ± 2,1 ^a	11,7 ± 1,2 ^a	9,9 ± 1,1 ^a	9,7 ± 4,3 ^a	12,4 ± 4,3 ^a
Fructose (g.L⁻¹)	20,3 ± 4,1 ^a	17,7 ± 5,2 ^a	19,9 ± 3,3 ^a	16,6 ± 1,9 ^a	16,1 ± 7,9 ^a	20,2 ± 7,9 ^a
Glucose (g.L⁻¹)	25,3 ± 5,6 ^a	21,9 ± 6,8 ^a	24,7 ± 4,5 ^a	20,7 ± 2,4 ^a	19,9 ± 10,3 ^a	25,2 ± 10,3 ^a
Indice de saveur sucrée	57,2 ± 11,5 ^a	48,3 ± 13,9 ^a	55,6 ± 8,8 ^a	46,6 ± 5,4 ^a	45,1 ± 22,1 ^a	57,1 ± 22,1 ^a
Acidité titrable (mEq.L⁻¹)	5,65 ± 0,35 ^a	4,73	4,75 ± 0,28 ^a	5,61 ± 0,71 ^a	5,46 ± 0,47 ^a	5,97 ± 0,50 ^a
Activité POD (U.mL⁻¹)	125,7 ± 16,4 ^a	0,1 ± 0,1 ^b	1,5 ± 1,6 ^{bc}	2,9 ± 2,3 ^c	12,4 ± 11,5 ^c	161,5 ± 13,4 ^d
Activité PPO (U.mL⁻¹)	13,3 ± 2,2 ^a	0,0 ± 0,0 ^b	0,0 ± 0,0 ^b	0,1 ± 0,1 ^b	0,6 ± 0,9 ^b	14,6 ± 1,7 ^a
Distance aromatique (DA)	0,0 ^a	7,0 ± 1,8 ^b	5,6 ± 2,2 ^b	4,4 ± 2,3 ^b	6,1 ± 1,3 ^b	6,0 ± 3,0 ^b

Moyenne ± intervalle de confiance à 95%. Des lettres différentes sur une même ligne signalent des différences significatives au niveau de confiance de 5%

Les résultats des analyses des activités enzymatiques montrent des différences significatives entre l'eau de coco non filtrée, les perméats et le rétentat. Ils nous ont permis de calculer les taux de rétention des activités enzymatiques (tableau 15). Les taux de rétention des activités enzymatiques sont tous équivalents à 100% sauf celui de la POD dans le perméat de l'eau de coco ultrafiltrée avec une membrane de diamètre de pores 100 nm. Les taux de rétention sont sans équivoque pour les membranes de pores 10 et 20 nm, ce qui signifie qu'aucune activité résiduelle de POD ou de PPO n'a pu être détectée lors de l'analyse. Les mesures effectuées lors de l'analyse des activités POD et PPO pour les perméats d'eau de coco filtrée sur des membranes de diamètres de pores 50 et 100 nm présentaient, ponctuellement, de faibles activités résiduelles non significatives. Il faut toutefois rappeler ici que la présence d'une activité enzymatique POD ou PPO, même faible, a des conséquences non négligeables sur l'eau de coco qui est un milieu extrêmement propice au développement des réactions enzymatiques.

Tableau 15. Taux de rétention des activités enzymatiques PPO et POD après ultrafiltration de l'eau de coco du lot TM1 sur membranes de diamètre de pores 10, 20, 50 et 100nm à 30°C en mode recyclage total

Taux de rétention (%)	10nm	20nm	50nm	100nm
POD	99,9 ± 0,1	99,0 ± 1,0	98,1 ± 1,6	92,0 ± 7,8
PPO	100 ± 0,0	100 ± 0,0	99,7 ± 0,6	97,3 ± 4,9

Des taux de rétention très élevés ont également été constatés par Magalhaes *et al.*, 2005 lors de l'ultrafiltration sur des membranes de 0,1 µm de diamètre de pores et de seuils de coupure de 20 et 50 kDa. Nous n'avons malheureusement pas d'information sur les seuils de coupure de nos membranes et ne les avons pas mesurés. Néanmoins, ces seuils sont probablement inférieurs aux poids moléculaires des deux enzymes retenues qui ont été évalués par Duarte *et al.*, 2002 respectivement à 49,2 kDa et à 73,8 kDa pour la POD et la PPO.

Le tableau 14 présente également les résultats du calcul de la distance aromatique qui vise à donner une indication globale sur la différence entre les profils en composés volatils de l'eau de coco non filtrée, les différents perméats et le rétentat. Cette distance aromatique ne présente pas de différence significative entre les perméats et le rétentat. On constate toutefois

de manière logique qu'elle est, en moyenne, plus élevée pour le perméat issu de la membrane de diamètre de pores 10 nm. L'analyse détaillée des variations de composés volatils de l'eau de coco fait l'objet du paragraphe suivant.

IV.4.2.3. - Influence des diamètres de pores des membranes d'ultrafiltration sur les composés volatils de l'eau de coco

L'eau de coco non filtrée, les perméats et le rétentat ont fait l'objet d'analyses des composés volatils à l'aide de la technique de microextraction en milieu solide (SPME) suivie d'une analyse en chromatographie gazeuse et spectrométrie de masse telle que développée au IV.1.3. page 136 en partie *Résultats et Discussion* de ce mémoire.

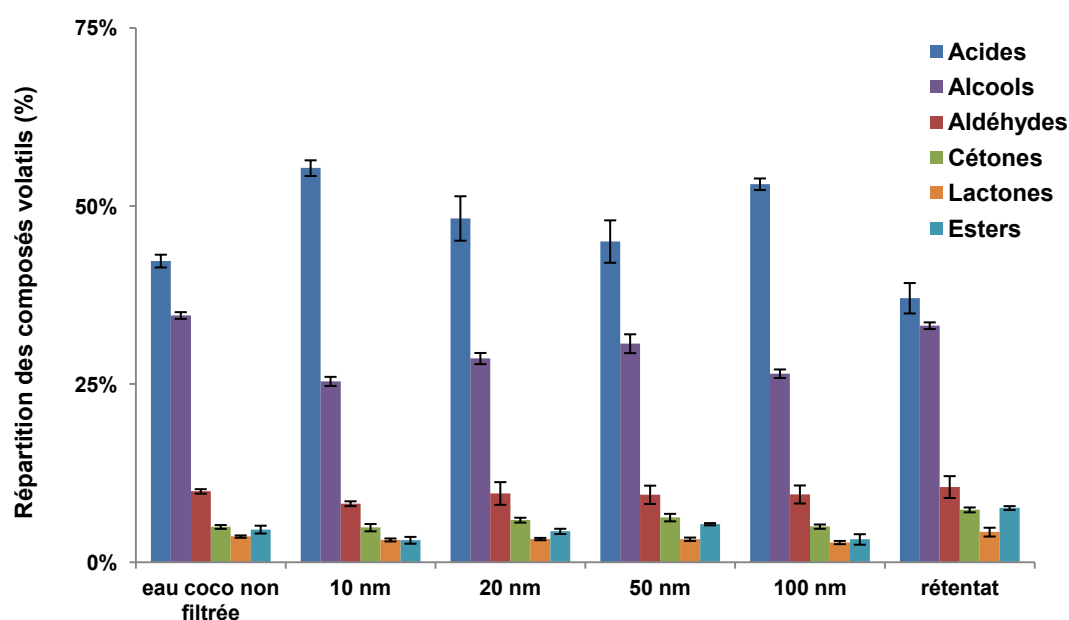


Figure 45. Répartition des familles de composés volatils de l'eau de coco immature du lot TM1 avant et après ultrafiltration sur membranes de diamètres de pores 10, 20, 50 et 100 nm à 30°C en mode recyclage total

Les répartitions des familles de composés chimiques donnent une image qualitative des profils de composés volatils des échantillons prélevés avant et après ultrafiltration (Figure 45). Tous les échantillons affichent les mêmes familles de composés chimiques. Les calculs des proportions sont basées sur les mêmes molécules et ne sont donc pas représentatifs de l'ensemble du profil aromatique du produit. Toutefois, aucune apparition ou disparition de pics n'a été constaté sur les chromatogrammes, ce qui laisse supposer que les évolutions du profil aromatique, si elles existent, sont préférentiellement liées à la répartition des molécules

entre le perméat et le rétentat et non à des réactions chimiques survenant au cours du procédé d'ultrafiltration.

Le calcul des taux de rétention des familles de composés aromatiques (Figure 46) montre que la famille des esters, avec un taux de rétention compris entre 30 et 60% selon les membranes, est celle qui traverse le moins facilement les membranes. Yu *et al.*, (1986) ont noté des taux de rétention de 80% pour l'hexanoate d'éthyle, le butyrate d'hexyle et l'hexanoate d'hexyle lors de l'ultrafiltration de jus de fruit de la passion sur une membrane de seuil de coupure de 25 kDa à 20°C. Cassano *et al.*, 2006 ont également constaté des taux de rétention de 80-90% pour des esters de type butanoate de méthyle, butanoate d'éthyle, benzoate d'éthyle et benzoate de méthyle lors de l'ultrafiltration de jus de kiwi sur des membranes en fluorure de polyvinylidène de seuil de coupure 15 kDa à 25°C. Les auteurs ont attribué ce phénomène à la nature hydrophobe de la membrane utilisée. Les membranes céramiques utilisées pour nos essais sont hydrophiles. Il semble toutefois que, dans notre cas, les molécules polaires (alcools, certains aldéhydes) soient moins retenues que les molécules apolaires (esters, cétones, lactones). Au-delà de la nature de la membrane, certains auteurs (Obermeyer *et al.*, 1993 ; Engel *et al.*, 2002) ont démontré que les composés aromatiques les moins polaires sont souvent associés à la fraction solide retenue par la membrane. Les esters de l'eau de coco pourraient donc être associés à des solutés, des macromolécules qui ne traversent pas les membranes sélectionnées pour ces essais.

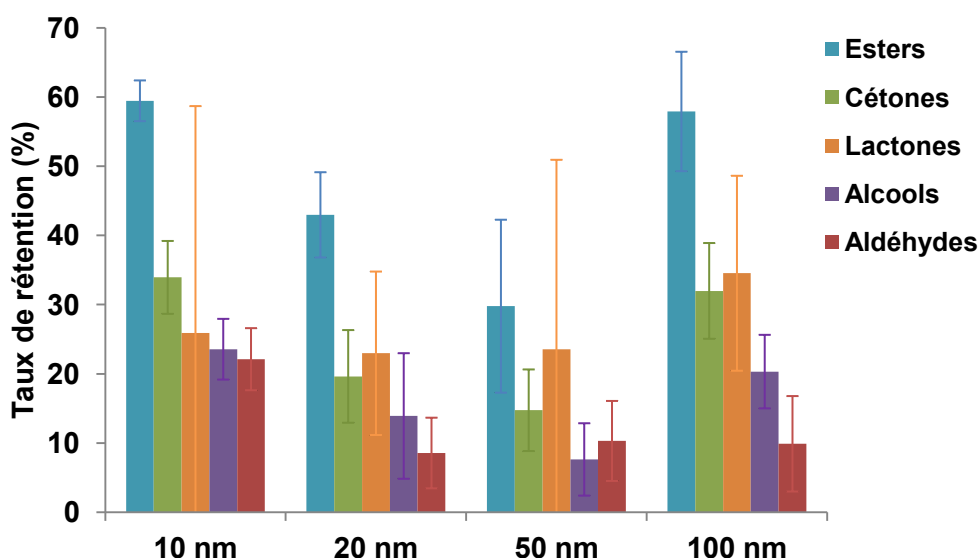


Figure 46. Taux de rétention des familles chimiques de composés volatils de l'eau de coco immature du lot TM1 après ultrafiltration sur membranes de diamètre de pores 10, 20, 50 et 100 nm à 30°C en mode recyclage total (les barres d'erreurs sont les intervalles de confiance à 95%)

Les cétones sont la deuxième famille de molécules les plus retenues par les membranes (entre 14 et 38%). Les taux de rétention des lactones ne sont pas significatifs, sauf pour les membranes de 20 nm (22%) et de 100 nm (35%). Ceux des alcools et des aldéhydes sont les plus faibles, respectivement de 6 à 28% et de 7 à 26%. Globalement, les taux de rétention les plus faibles, quelles que soient les familles de composés volatils, sont observés sur les membranes de diamètre de pores 20 et 50 nm.

D'après la figure 45, les pourcentages d'esters et de cétones dans le rétentat sont plus importants que dans l'eau de coco non filtrée alors que son pourcentage d'acides est plus faible. L'observation des pertes de familles de composés aromatiques (pertes basées sur l'évaluation des différences de surfaces standardisées S_{is} entre l'eau non filtrée et le rétentat) confirment cette vision (Figure 47).

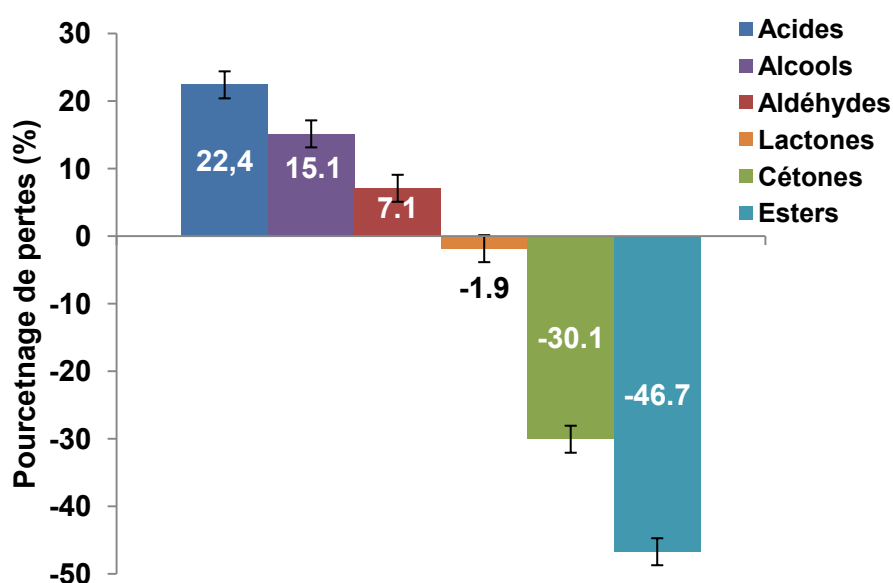


Figure 47. Pourcentage de pertes de familles chimiques de composés volatils dans le rétentat de l'eau de coco immature après ultrafiltration sur membranes de pores de 10, 20, 50 et 100 nm à 30°C en mode recyclage total
(pertes calculées par rapport à l'eau de coco non filtrée)

Le rétentat perd en effet 22,4% de molécules de type acides alors que les surfaces des molécules de types cétones et esters augmentent respectivement de 30,1 et 46,7%. Les pertes en alcools et aldéhydes sont faibles et inexistantes pour les lactones.

Une analyse en composante principale des surfaces standardisées des composés volatils de l'eau de coco des perméats, rétentat et eau de coco non filtrée montre effectivement des différences entre l'eau de coco non filtrée et le rétentat d'une part, et les perméats d'autre part (Figure 48). Les trois premières composantes principales expliquent 93% de la variance totale. La première composante représente 47,5% de la variance totale et sépare l'eau de coco non filtrée et le rétentat, des perméats. La deuxième composante représente 25,4% de la variance totale et sépare l'eau de coco non filtrée du rétentat.

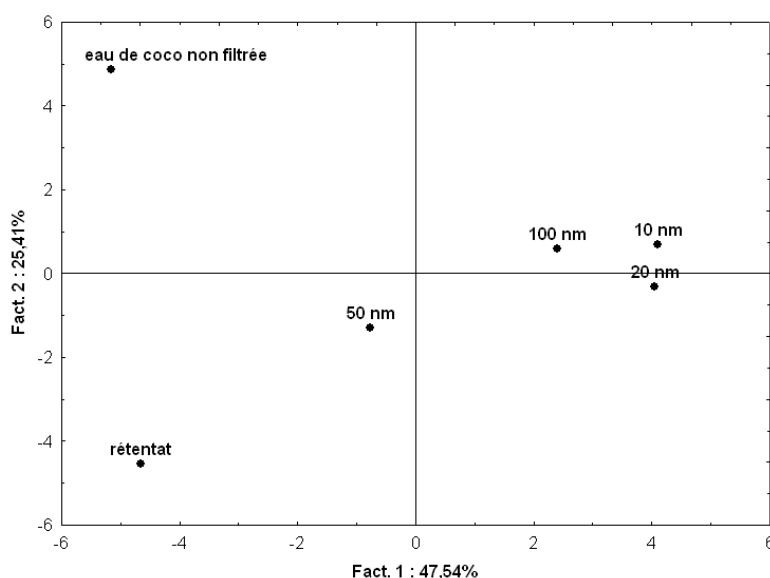


Figure 48. Projection des individus sur les axes 1 et 2 de l'ACP des surfaces standardisées des composés volatils de l'eau de coco du lot TM1 avant et après ultrafiltration sur membranes de diamètre de pores 10, 20, 50 et 100 nm à 30°C en mode recyclage total

D'après la projection des variables (composés volatils de l'eau de coco analysés par SPME-GC-MS) sur les axes 1 et 2 de l'ACP (Figure 49), les perméats semblent se distinguer par la présence marquée d'acides gras à chaînes moyennes (C_9 , C_{10} , C_{12}), et d'alcools de type 1-pentanol, 1-hexanol, 1-octène-3-ol, alcool benzylique, variables corrélées à l'axe 1. L'axe 2, plutôt corrélé positivement au Cis-3-nonène-1-ol, aux acides gras à chaînes courtes (C_6 , C_8), à l'hexanal représente bien les notes « vertes » de l'eau de coco non filtrée. Cet axe est corrélé négativement à la 3-pentène-2-one et aux esters octanoate d'éthyle et acétate d'éthyle que l'on retrouve en majorité dans le rétentat. Ce dernier est donc bien caractérisé par des molécules de

type esters et cétones. Ces observations confirment la rétention des molécules de type esters et cétones par les membranes.

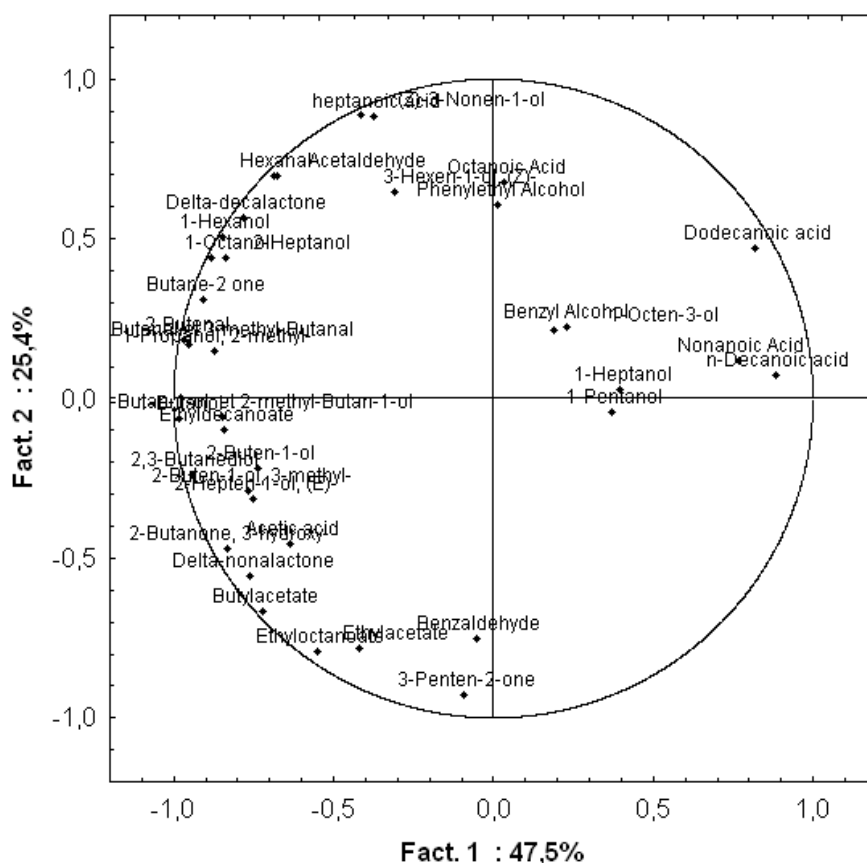


Figure 49. Projection des variables sur les axes 1 et 2 de l'ACP des surfaces standardisées des composés volatils de l'eau de coco du lot TM1 avant et après ultrafiltration sur membranes de diamètre de pores 10, 20, 50 et 100 nm à 30°C en mode recyclage total

IV.4.2.4. - Conclusion partielle

Les essais d'ultrafiltration d'eau de coco immature au travers de membranes de diamètre de pores 10, 20, 50 et 100 nm ont montré l'efficacité du procédé sur la rétention des enzymes POD et PPO, quel que soit le diamètre de pores des membranes. Cette technologie répond donc à l'objectif fixé de stabiliser l'eau de coco par rapport aux dégradations liées à ses enzymes endogènes.

Les densités de flux des membranes de diamètre de pores 20, 50 et 100 nm sont équivalentes entre elles et de l'ordre de $140 \text{ L.h}^{-1}.\text{m}^{-2}$, ce qui autoriserait l'exploitation industrielle de ce procédé pour l'eau de coco. Cette densité de flux est bien supérieure à celles

observées par Magalhaes *et al.*, 2005 sur de l'eau de coco immature filtrée sur des membranes en polysulfone de diamètre de pores 100 nm et de seuils de coupure 100, 50 et 20 kDa qui étaient au maximum de $15 \text{ L.h}^{-1}.\text{m}^{-2}$. Cette dernière est semblable à celle que nous avons observée pour la membrane de diamètre de pores de 10 nm ($15,3 \text{ L.h}^{-1}.\text{m}^{-2}$). Elle n'est pas suffisante pour autoriser une exploitation industrielle de l'opération. La membrane de diamètre de pores 10 nm ne sera donc pas prise en considération dans la suite des réflexions.

L'examen comparatif de la qualité de l'eau de coco non filtrée et filtrée au travers des différentes membranes montrent que l'ultrafiltration préserve les qualités initiales de l'eau de coco. Une légère diminution de l'extrait sec soluble ne modifie par l'indice de saveur sucrée des perméats. La diminution de l'ESS doit donc concerner une fraction non glucidique des solutés en suspension, et certainement la fraction protéique puisque les enzymes, macromolécules plus volumineuses que les sucres dans l'eau de coco, sont retenues. Les taux de rétention des sucres montrent les valeurs les plus faibles pour la membrane de diamètre de pore de 20 nm.

La composition qualitative du profil des composés volatils de l'eau de coco n'est pas modifiée par le traitement d'ultrafiltration. Les mêmes composés se retrouvent dans le perméat et l'eau de coco non filtrée. Les familles de composés chimiques de type esters (30 à 60%), et dans une moindre mesure (15 à 33%), celle des composés de type cétones sont toutefois retenues par toutes les membranes. Les taux de rétention les plus faibles sont obtenus par ultrafiltration sur membranes de diamètre de pores 20 et 50 nm.

Finalement, l'ultrafiltration tangentielle de l'eau de coco sur des membranes céramiques de diamètre de pores 20 nm semble être la mieux adaptée aux objectifs et contraintes fixées. Elle assure une bonne densité de flux : $140 \text{ L.h}^{-1}.\text{m}^{-2}$ tout en (i) éliminant totalement les activités enzymatiques des POD et PPO, (ii) préservant les caractéristiques physico-chimiques principales du produit et (iii) limitant la perte des composés aromatiques.

Les essais suivant vont donc se focaliser sur l'utilisation des membranes de diamètre de pores 20 nm en mode concentration pour simuler les conditions industrielles de production d'eau de coco filtrée stabilisée.

IV.4.3. - Essais exploratoires d'ultrafiltration d'eau de coco en mode concentration

Après avoir sélectionné la membrane de diamètre de pores 20 nm pour l'ultrafiltration de l'eau de coco immature, des essais en mode concentration, qui est le mode pratiqué dans l'industrie, sont réalisés sur le lot TM2 d'eau de coco en provenance du Brésil. Le mode concentration consiste à prélever de façon continue le perméat sans le recycler. Lors de ces essais, le paramètre de suivi est le facteur de réduction volumique (FRV) qui est le rapport entre la quantité d'eau de coco de l'alimentation et le volume total de rétentat à un instant donné.

La dégradation de l'eau de coco étant très rapide à température ambiante de 30°C (Cf. résultats de la partie IV.2 de ce mémoire), il a été décidé de tester l'effet d'un abaissement de la température sur l'opération d'ultrafiltration. Cet abaissement de température est supposé limiter l'activation des enzymes endogènes de l'eau de coco et limiter les dégradations chimiques du produit. Ainsi, deux essais de concentration d'eau de coco ont été réalisés à deux températures : $20,0^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ et $30^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. Le contrôle de la température durant toute la durée de l'essai est réalisé à l'aide d'un échangeur de chaleur dans lequel circule une eau réfrigérée ou chauffée selon la température de consigne souhaitée. Les caractéristiques du lot d'eau de coco TM2 sont fournies dans le tableau 11. Etant donnée la faible quantité d'eau de coco disponible pour ces essais, un seul essai a été réalisé par température. Les résultats seront donc exploités avec prudence car on ne peut conclure de différences significatives sans répétitions. Ces essais sont donc bien exploratoires et doivent être répétés afin de confirmer les tendances observées.

IV.4.3.1. - Evolution de la densité de flux de perméat

Les densités de flux de perméat d'eau de coco immature (Figure 50) montrent des évolutions similaires à celles observées en mode recyclage total. Les différentes phases : chute brutale de la densité de flux de perméat suivie d'une diminution progressive avant stabilisation, sont bien marquées. Comme dans les premiers essais, cette diminution indique la formation d'un dépôt d'éléments colmatants sur la surface membranaire et, pour cet essai en mode concentration, probablement l'effet supplémentaire de la concentration, qui joue sur les transferts de matière. Les densités de flux de perméat se stabilisent à partir d'un FRV de 4, c'est-à-dire au bout de 100 min à 20°C et 40 min à 30°C. Elles restent très élevées : $227 \text{ L.h}^{-1}.\text{m}^{-2}$ pour l'essai réalisé à 20°C et $306 \text{ L.h}^{-1}.\text{m}^{-2}$ pour l'essai à 30°C. Ces valeurs sont

supérieures à celle observée par Diop, 2005 ($150 \text{ L.h}^{-1}.\text{m}^{-2}$) lors de la microfiltration de l'eau de coco immature sur membranes de $0,2 \mu\text{m}$ à une température de 20°C et une pression transmembranaire de 1,40 bar pour un FRV de 25. Cette différence pourrait résulter de la pression transmembranaire plus élevée dans notre cas, de la configuration et du matériau de la membrane ou encore des différences de composition de la matière première.

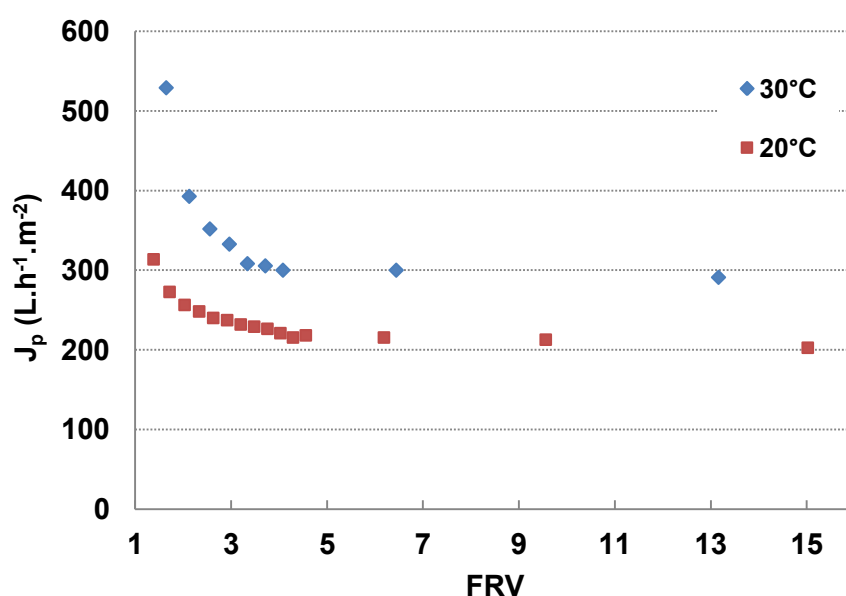


Figure 50. Evolution de la densité de flux de perméat en fonction du facteur de réduction volumique (FRV) durant l'ultrafiltration de l'eau de coco immature du lot TM2 sur des membranes de diamètre de pores 20 nm à 20°C et 30°C à une pression moyenne de 4 bar

Les densités de flux observées à 30°C sont toujours supérieures à celles observées à 20°C et également plus élevées que celles précédemment observées sur nos essais à $\text{FRV}=1$ (mode recyclage total). A 30°C , pour cet essai d'ultrafiltration du lot TM2, la densité de flux observée en phase stationnaire est de $306,0 \text{ L.h}^{-1}.\text{m}^{-2}$ alors que celle observée sur le lot TM1 était de $135,3 \text{ L.h}^{-1}.\text{m}^{-2}$. La différence vient probablement de la composition des matières premières. L'extrait sec soluble du lot TM2 est très inférieur à celui du lot TM1. Le « potentiel colmatant » du lot TM2 est certainement inférieur à celui du lot TM1, les solutés étant moins nombreux dans cette eau de coco.

La différence de densité de flux observées pour les températures de 20 et 30°C lors de l'ultrafiltration du lot TM2 s'explique par l'influence de la température sur la viscosité du produit filtré. A titre indicatif, la viscosité de l'eau pure passe de $0,0008 \text{ Pa.s}$ à $0,001 \text{ Pa.s}$

entre 20 et 30°C soit une augmentation de 20%. L'eau de coco étant une solution peu sucrée, il n'est pas faux d'envisager qu'une élévation de température réduit sa viscosité, ce qui, pour une même pression transmembranaire, améliore les transferts de matières et augmente la densité de flux de perméat. Plusieurs auteurs ont constaté cet effet (Vaillant, 2000 ; Cassano *et al.*, 2007) sur jus de fruits tropicaux et jus de kiwi. En phase stationnaire, une augmentation de température de 10°C entraîne une augmentation de densité de flux de perméat de 78 L.h⁻¹.m⁻² soit 35% en moyenne. Lors de l'ultrafiltration de jus de kiwi sur une membrane de cellulose de seuil de coupure de 30kDa, Cassano *et al.*, 2008 ont observé une augmentation de 25 L.h⁻¹.m⁻² pour une augmentation de température de 10°C (entre 20 et 30°C). L'effet de la température sur la densité de flux de perméat de l'eau de coco reste à confirmer par la répétition des essais. Néanmoins, la différence observée entre les deux essais d'ultrafiltration en mode concentration menés sur le même produit dans les mêmes conditions, est substantielle.

L'impact de la pression transmembranaire appliquée est présenté en figure 51. A 20°C, les densités de flux varient peu en fonction de la pression transmembranaire et du FRV. Seules les pressions transmembranaires les plus faibles, contre toute logique, maintiennent des flux un peu plus élevés pour un FRV de 1,4. Ceci peut être dû à des erreurs de mesure de débit de flux de perméat. A 20°C, les densités de flux se stabilisent rapidement dès les plus faibles FRV vers la valeur moyenne de 227 L.h⁻¹.m⁻². A 30°C, les densités de flux sont plus élevées pour des FRV faibles et viennent se stabiliser pour des FRV supérieurs à 4, à 306 L.h⁻¹.m⁻². Les densités de flux sont identiques, quelle que soit la position de la membrane sur le pilote. La pression transmembranaire n'a pas d'effet sur la densité de flux.

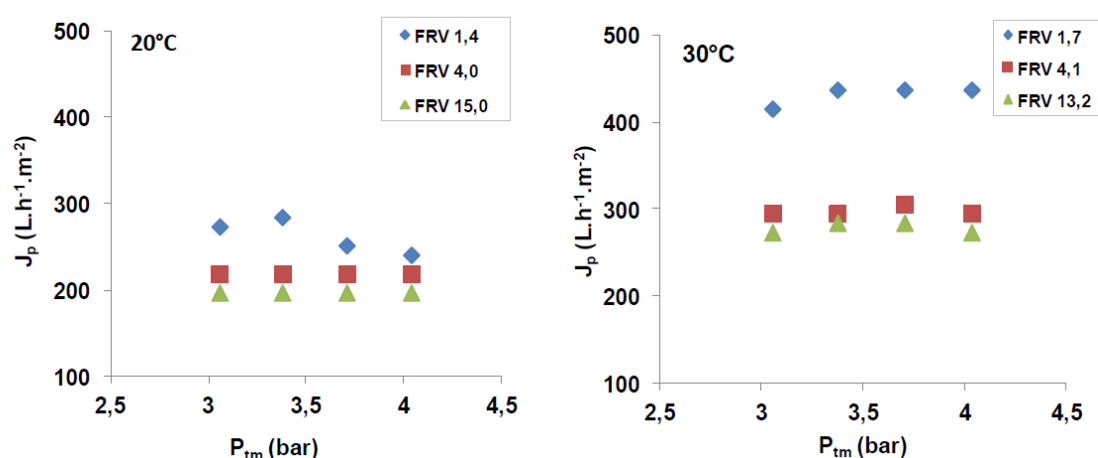


Figure 51. Pressions transmembranaires (P_{tm}) observées lors de essais d'ultrafiltration d'eau de coco immature du lot TM2 sur des membranes de diamètre de pores 20 nm à 20°C et 30°C en mode FRV croissant

Les mesures de perméabilité à l'eau à 20°C avant et après essai d'ultrafiltration de l'eau de coco du lot TM2 démontrent une baisse de densité de flux de $114 \text{ L.h}^{-1}.\text{m}^{-2}.\text{bar}^{-1}$ soit 53% après les essais à 20°C et de $102 \text{ L.h}^{-1}.\text{m}^{-2}.\text{bar}^{-1}$, soit 48% après les essais à 30°C. Ceci confirme l'installation d'une couche de colmatage sur les membranes de diamètre de pores de 20 nm lors des deux essais d'ultrafiltration de l'eau de coco. Le phénomène de colmatage serait légèrement plus important à 20°C qu'à 30°C.

IV.4.3.2. - Impact de l'ultrafiltration en mode concentration sur la qualité de l'eau de coco

Les échantillons de perméat d'eau de coco prélevés au cours du temps pour des FRV donnés ont été analysés afin d'effectuer un suivi de la qualité du produit obtenu tout au long de l'opération d'ultrafiltration. Le tableau 16 présente les résultats de ces analyses pour les FRV finaux des deux essais : FRV 15,0 pour l'essai à 20°C et FRV 13,2 pour l'essai à 30°C. Les analyses des rétentats sont également comparées à celles de l'eau de coco avant filtration.

Tableau 16. Caractéristiques physico-chimiques de l'eau de coco du lot TM2 filtrée sur des membranes de diamètre de pores 20 nm à 20°C et 30°C en mode FRV croissant

	Eau coco non filtrée	20°C		30°C	
		Perméat à FRV 15,0	Rétentat	Perméat à FRV 13,2	Rétentat
pH	4,80	4,90	4,95	4,95	4,88
Conductivité électrique (S.m^{-1})	0,503	0,550	0,560	0,510	0,520
O ₂ dissous à 20°C (mg.L^{-1})	3,5	3,7	2,7	3,1	0,1
ESS (g.kg^{-1})	44	45	47	42	44
Sucres solubles totaux (g.L^{-1})	32	40,5	40,6	39,7	36,6
Sorbitol (g.L^{-1})	0,03	0,03	0,03	0,02	0,02
Saccharose (g.L^{-1})	0,40	0,59	0,43	0,50	0,17
Fructose (g.L^{-1})	15,2	19,2	19,2	19,0	17,6
Glucose (g.L^{-1})	16,3	20,7	20,8	20,2	18,8
Indice de saveur sucrée	32	40,2	40,2	39,4	36,4
Acidité titrable (mEq.L^{-1})	8,1	8,3	9,4	7,9	8,7
Activité POD (U.mL^{-1})	1,4	0,4	85,2	0,3	170,7
Activité PPO (U.mL^{-1})	10,4	1,2	150,3	0,4	62,8
Distance aromatique (DA)	0,00	0,73	0,32	0,72	1,31

La qualité des perméats recueillis à 20°C et 30°C est identique. Seul l'extrait sec soluble du perméat filtré à 20°C semble un peu plus élevé que celui filtré à 30°C. Les deux perméats ont des concentrations en sucres plus élevées que l'eau de coco non filtrée et présentent donc un indice de saveur sucrée également supérieur. Les taux de rétention des sucres se situent entre 5 et 10% selon les molécules considérées et sont bien équivalents à ceux obtenus lors des précédents essais menés sur les quatre membranes de diamètres de pores différents. L'acidité titrable des perméats est égale à celle du produit originel. La distance aromatique entre l'eau de coco non filtrée et les perméats est très faible respectivement 0,73 et 0,72 à 20°C et 30°C. Comme attendu, les deux perméats sont dépourvus d'activités enzymatiques de type POD ou PPO. La comparaison des qualités des perméats à la qualité de l'eau de coco non filtrée semble montrer que les deux opérations de filtration se sont correctement déroulées et aboutiraient à des produits de qualité comparables.

Or, l'étude des résultats des analyses des rétentats, montrent une situation toute autre. La baisse de la teneur en oxygène dissous dans les deux rétentats est le signal de modifications biochimiques ou microbiologiques non contrôlées. A 20°C, la multiplication par 15 de l'activité de la PPO et par 6 de la POD montre que l'opération de concentration des activités enzymatiques dans le rétentat s'est bien déroulée. La baisse de la teneur en oxygène dissous serait due au développement des activités des enzymes en présence. A 30°C, la concentration en oxygène dissous est nulle dans le rétentat et les concentrations en sucres solubles sont plus faibles que dans le perméat. L'acidité titrable reste proche de celle du perméat bien que légèrement plus élevée. Ces observations pourraient indiquer un début de fermentation de l'eau de coco pendant l'essai. La distance aromatique de ce rétentat par rapport à l'eau de coco non filtrée est également le double de celle des perméats. La cause des dégradations subies par le rétentat lors des essais à 30°C ne peut être clairement identifiée puisque nous n'avons pas réalisé d'analyses microbiologiques. Néanmoins, il est improbable que cet essai se soit déroulé dans les mêmes conditions que l'essai à 20°C. La température de 30°C n'a pas permis de conserver toutes les qualités de l'eau de coco durant les 90 minutes d'ultrafiltration, du moins dans le rétentat.

Malgré ces différences qualitatives, l'efficacité du procédé d'ultrafiltration sur membranes de 20 nm vis-à-vis de la rétention des activités enzymatiques PPO et POD est confirmée (Tableau 17). Ni le facteur de réduction volumique, ni la température n'ont d'influence sur le taux de rétention.

Tableau 17. Effet de la température sur le taux de rétention des activités enzymatiques PPO et POD de l'eau de coco du lot TM2 filtrée sur membrane de diamètre de pores 20 nm à 20°C et 30°C en mode FRV croissant

Taux de rétention (%) à 20°C			Taux de rétention (%) à 30°C		
FRV	PPO	POD	FRV	PPO	POD
1,4	99,5	99,6	1,7	99,4	100,0
2,9	97,8	99,5	3,0	96,7	100,0
4,0	99,1	99,5	4,1	99,4	99,6
6,2	99,3	99,5	6,4	97,1	99,4
15,0	99,6	99,7	13,2	98,1	99,8

La figure 52 présente l'évolution des densités de flux de perméat et de l'extrait sec soluble (en masse calculée à l'instant t) en fonction du FRV. Cette évolution permet de constater que le niveau de l'extrait sec soluble récupéré se stabilise à partir des FRV supérieurs à 4 pour une température de filtration de 20°C et 4,5 pour une température de 30°C. En phase stationnaire, une augmentation de température de 10°C permet de récupérer en moyenne 80 g d'ESS supplémentaire, pour un même FRV.

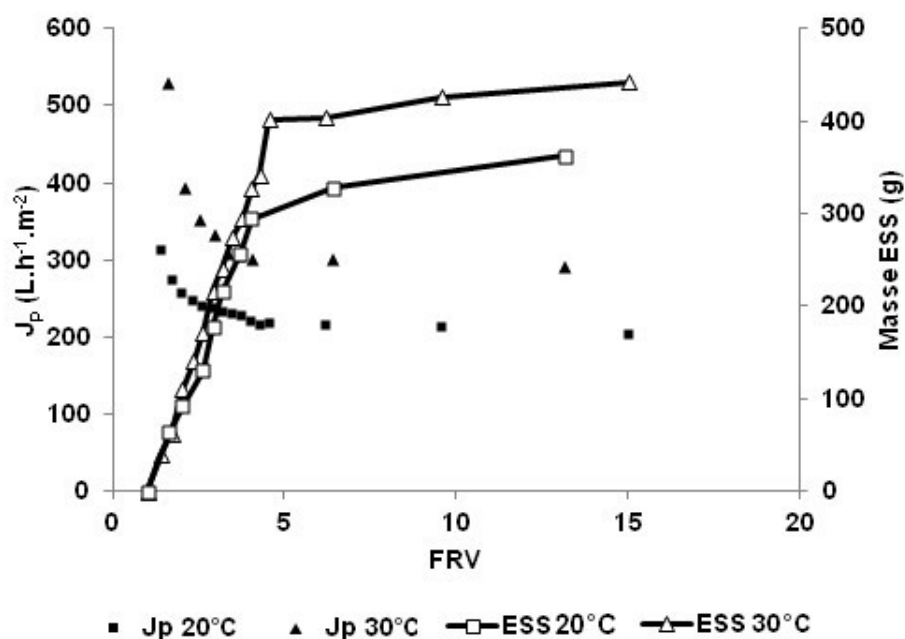


Figure 52. Evolution des densités de flux et de la masse d'ESS de l'eau de coco du lot TM2 durant l'ultrafiltration sur membrane de diamètre de pores 20 nm à 20°C et 30°C en mode FRV croissant

L'impact de l'ultrafiltration en mode concentration sur les composés volatils de l'eau de coco a également été étudié selon les mêmes techniques que pour les essais précédents. Les taux de rétention calculés à partir des surfaces standardisées S_{is} (par rapport au standard interne) dénotent les mêmes tendances que lors des essais sur membranes de diamètres de pores 10, 20, 50 et 100 nm. Les taux de rétention présentés en figure 53 concerne les perméats collectés à FRV de 15,0 à 20°C et 13,2 à 30°C. Le taux de rétention le plus élevé est toujours celui des composés de la famille des esters. A 20°C, les cétones sont également plus retenues que les composés polaires aldéhydes et alcools. A 30°C, les taux de rétention sont en apparence identiques pour les esters, aldéhydes et alcools ; plus faibles pour les cétones. Le taux de rétention négatif présenté par les acides indique cependant que le profil du perméat et/ou du rétentat de l'essai mené à 30°C a subi des modifications durant l'opération d'ultrafiltration.

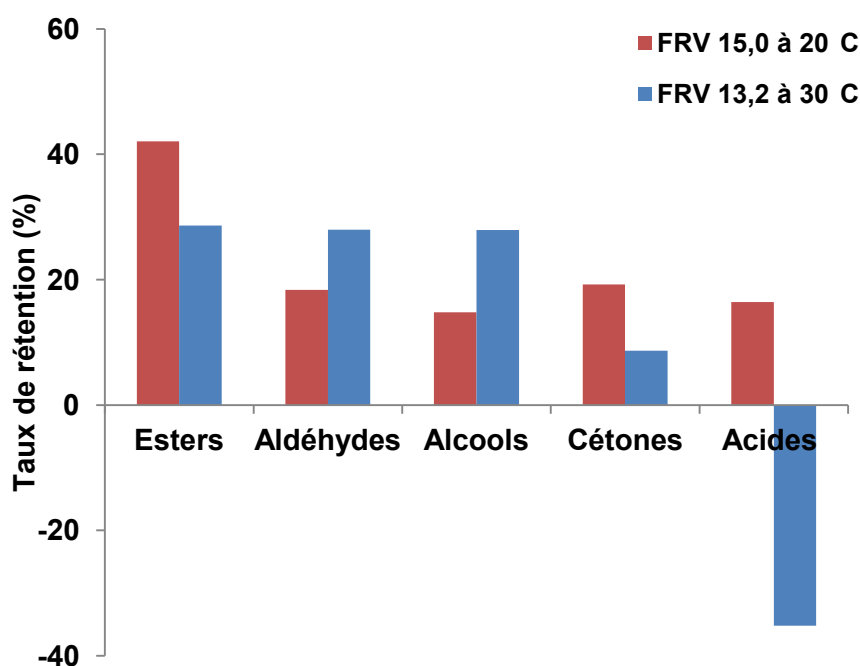


Figure 53. Taux de rétention des familles de composés volatils de l'eau de coco du lot TM2 après ultrafiltration sur membrane de diamètre de pores 20 nm à 20°C et 30°C en mode FRV croissant

Une observation des variations des surfaces standardisées des familles de composés volatils du rétentat issu de l'opération d'ultrafiltration à 30°C (Figure 54) montre également des anomalies avec des pertes supérieures à 100% pour les alcools et des gains de quasiment 50% en composés de type acides. Il y a donc bien eu réactions chimiques, enzymatiques et/ou

fermentation lors de l'essai d'ultrafiltration de l'eau de coco à 30°C. Ces modifications spontanées du produit en cours d'opération, sans avoir de conséquences sur les critères de qualité majeurs de l'eau de coco, pourraient avoir un impact négatif sur sa qualité aromatique.

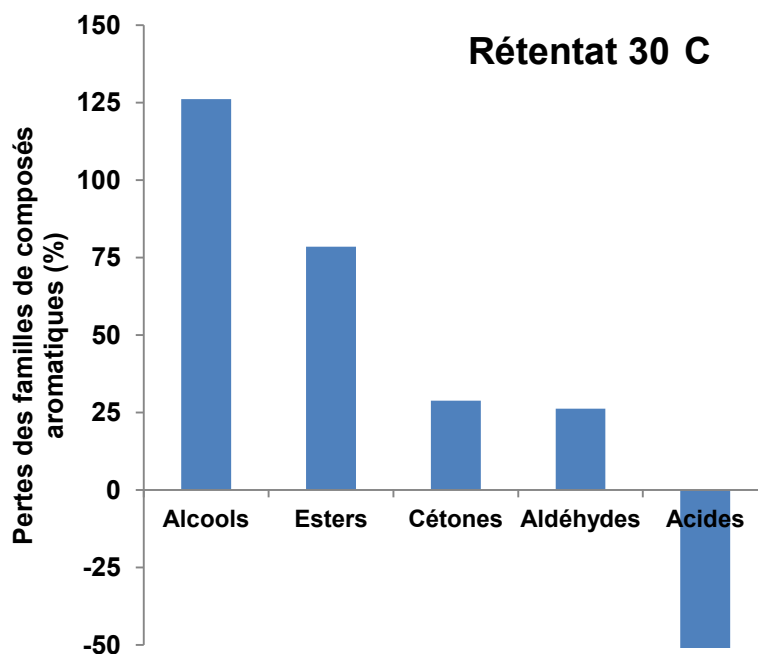


Figure 54. Pertes en composés volatils du rétentat de l'eau de coco filtrée sur membrane de diamètre de pores 20 nm à 30°C en mode FRV croissant

IV.4.4. - Conclusion partielle

Les essais de stabilisation de l'eau de coco par des techniques d'ultrafiltration avaient pour objectif principal d'éliminer les activités enzymatiques endogènes responsables de sa détérioration rapide. Ils avaient également pour but d'étudier l'impact de l'opération d'ultrafiltration sur la qualité de l'eau de coco obtenue.

L'étude de l'élimination des enzymes a débuté par la sélection du diamètre de pores de la membrane d'ultrafiltration « idéale ». Il s'agissait de trouver un équilibre entre une capacité de rétention enzymatique maximale, un minimum d'impact sur la qualité de l'eau de coco traitée et un potentiel d'exploitation industrielle. Une membrane céramique de diamètre de pores 20 nm a répondu à ces attentes. Elle présente des taux de rétention enzymatique de $99,9\% \pm 1,0$ pour la POD et de $100\% \pm 0,0$ pour la PPO. La densité de flux obtenu en mode recyclage total du perméat est de $135,3 \text{ L.h}^{-1}.\text{m}^{-2}$. Les taux de rétention des sucres, dans ces conditions, restent inférieurs à 10%. Le profil en composés volatils de l'eau de coco filtrée,

est proche de celui de l'eau de coco non filtrée. Seule la famille des esters est retenue (50%) par la membrane. Cette dernière constatation est cependant valable pour toutes les membranes utilisées au cours de cet essai.

La membrane céramique de diamètre de pores 20 nm a été testée en simulant des conditions d'exploitation industrielle en mode de concentration à FRV croissant. Les essais, conduits à deux températures (20°C et 30°C), ont confirmé l'efficacité de l'opération d'ultrafiltration vis-à-vis de la rétention des enzymes POD et PPO. Les qualités du perméat obtenu sont équivalentes, dans les deux cas, à celles de l'eau de coco non filtrée car le pH, l'acidité titrable, la concentration en oxygène dissous ne sont pas modifiés. La conductivité électrique, qui indique éventuellement un changement de la balance électrolytique du produit en liaison, entre autres, avec les concentrations en sels minéraux, reste stable. Le taux de rétention des sucres reste faible (inférieur à 10%), ce qui n'entraîne pas de modification de l'indice de saveur sucrée. Seuls le taux de rétention des molécules de la famille des esters restent proches de 40%.

Cette étude exploratoire a également montré que l'effet de la température sur la densité de flux de perméat n'est pas négligeable. Une augmentation de la température de 10°C (entre 20°C et 30°C) permet une augmentation de 35% de la densité de flux de perméat. Bien qu'intéressante, cette augmentation de température s'accompagne également de l'augmentation du risque de voir se dégrader le produit au cours de l'opération. Des modifications du profil des composés volatils de l'eau de coco sont en effet apparues au cours de l'opération d'ultrafiltration à 30°C.

Nous avons démontré dans la seconde partie de ce mémoire que l'eau de coco conservée à une température de 30°C, sans précaution particulière si ce n'est une extraction de la noix en conditions sanitaires correctes, se dégradent en moins de trois heures. L'essai d'ultrafiltration menée à la température de 30°C illustre à nouveau toute la difficulté de préserver ce produit à température ambiante. Cependant, cet essai n'a pas été reproduit et une contamination microbienne involontaire et trop importante dès le début de l'opération pourrait être à l'origine des dégradations observées.

Ainsi, l'ultrafiltration tangentielle de l'eau de coco immature répond aux besoins de stabilisation de l'eau de coco. Cependant, telle que pratiquée en milieu industriel, cette opération impose une durée de traitement bien plus importante que les traitements thermiques (le traitement par chauffage ohmique ne dure que quelques secondes, voire minutes si l'on inclut les phases de préchauffage et refroidissement du produit). Une durée de traitement longue, combinée à une température de 30°C sont des facteurs de risque importants pouvant

conduire à la dégradation du produit pendant l'opération unitaire. Les signes de cette dégradation ne seront pas toujours visibles ou détectables dans le perméat puisqu'il est protégé par sa « stérilité » et son absence d'enzymes. En revanche, la détection des premiers signes de dégradation du produit pourra se faire aisément dans le rétentat.

Ainsi, la maîtrise de la température, bien que souvent coûteuse dans l'industrie, pourra s'avérer, dans le cadre du traitement de l'eau de coco par ultrafiltration tangentielle, indispensable. Une température de 20°C permet d'obtenir une bonne densité de flux de perméat tout en minimisant les risques de dégradation du produit.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

V – Conclusion et perspectives

L'eau de coco est un jus de fruit atypique dont les propriétés encore peu étudiées sont cependant recherchées par les consommateurs de boissons à effet « santé ». Sa production à l'échelle industrielle est relativement récente et prend de l'ampleur depuis quelques années. Sur la base d'une étude bibliographique la plus exhaustive possible, ses caractéristiques ont été décrites et présentées dans deux publications scientifiques.

Les conclusions de l'étude bibliographique ont décelé plusieurs lacunes dans la thématique de recherche comme :

- le manque d'information sur les attributs de qualité de l'eau de coco et, en particulier, la méconnaissance de ses composés volatils alors que certaines variétés de cocotier sont qualifiées d' « aromatiques » et sont très recherchées pour ce caractère ;
- le manque d'indicateur fiable pour qualifier la matière première et sélectionner des variétés répondant aux exigences d'un cahier des charges donné ;
- l'inefficacité des traitements thermiques conventionnels vis-à-vis de la conservation des attributs de l'eau de coco, plus spécifiquement de ses qualités aromatiques.

Ce travail s'est donc attaché, dans un premier temps, à compléter et approfondir les connaissances actuelles sur la composition de l'eau de coco. Depuis plusieurs années, le CIRAD, au travers de l'UMR Qualisud, a la chance d'entretenir des relations de partenariat de qualité avec la station de recherche Marc Delorme du Centre National de Recherche Agronomique (CNRA) en Côte d'Ivoire, labellisée collection internationale de cocotiers pour l'Afrique et l'Océan Indien en 1999. Grâce à ce partenariat, nous avons pu obtenir des fruits de cinq variétés différentes, récoltés à trois stades de maturité bien identifiés et ce, dans les meilleures conditions. Stade de récolte et variété ont ainsi été maîtrisés afin de cerner leurs effets sur :

- les caractéristiques physiques et chimiques à l'origine entre autres de la saveur sucrée de l'eau de coco ;
- les activités enzymatiques responsables de la dégradation de sa couleur ;
- les composés volatils responsables, en partie, de sa qualité organoleptique.

Si les caractéristiques physico-chimiques évoluent globalement de la même façon pour les différentes variétés, leur composition est parfois source de différences. Ainsi, l'eau de coco extraite des noix de la variété de cocotier Grand Ouest Africain (GOA) présente une concentration en sorbitol plus élevée que celles des quatre autres variétés étudiées. Dans cette même eau de coco, l'activité de la peroxydase est plus élevée et la proportion des lactones parmi les composés volatils est plus importante. La variété influence donc la qualité de l'eau de coco de façon non négligeable. Le stade de maturité à la récolte est également source de variation puisque les profils aromatiques des eaux de coco font apparaître des évolutions entre les proportions de cétones et d'alcools au cours de la maturation du fruit.

Sur la base de ces critères de qualité identifiés et mesurés à l'aide d'outils performants et optimisés, un indice global de qualité (IGQ) des noix de coco a été proposé. Cet indice simple, c'est-à-dire basé sur des mesures morphométriques et biochimiques, ou bien enrichi avec les résultats des analyses de composés volatils, permet de discriminer des variétés par rapport à leur potentiel de transformation en boisson « eau de coco ». Ainsi, les variétés de cocotier dites « Naines » apparaissent comme les plus adaptées à la production d'eau de coco. Parmi les cinq variétés étudiées, le Nain Jaune de Malaisie (NJM) récoltée au stade de maturité de 7 mois est le plus prometteur.

Ces résultats apportent une réponse à notre première question de recherche « *Peut-on relier la variabilité de la qualité de l'eau de coco à la variété de cocotiers et au stade de maturité ?* » *Il existe bien un lien entre la qualité de l'eau de coco et son origine.* Variété et stade de maturité à la récolte sont deux facteurs dont les effets ne peuvent être négligés et dont la connaissance conduisent à mieux maîtriser la qualité de ce jus de fruit tropical. Au cours de ce travail, un outil d'aide à la décision : **l'indice global de qualité** a été proposé pour quantifier ces effets et classer les variétés de cocotier. Cet outil, à la disposition des acteurs de la filière (chercheurs, producteurs, transformateurs) permet d'évaluer objectivement le potentiel de transformation en boisson des variétés de cocotier.

La production d'eau de coco destinée à l'export nécessite une première étape d'extraction et conservation de l'eau à l'extérieur de la noix avant l'application, dans un second temps, d'un traitement de stérilisation. Elle nous amène à notre deuxième question de recherche « *Peut-on préserver la qualité de l'eau de coco à l'aide de technologies douces ?* »

Un suivi de la dégradation de l'eau de coco à une température contrôlée de 30°C a permis de déterminer la durée de conservation maximale de l'eau de coco à cette température : 2 heures. Cette étude, effectuée à l'aide d'un équipement de spectrophotométrie proche infrarouge, démontre l'efficacité de cet outil pour le suivi de la qualité de l'eau de coco en temps réel.

Les techniques de stérilisation conventionnelles ne permettant pas de préserver les qualités aromatiques de l'eau de coco, des technologies émergentes comme le chauffage ohmique et l'ultrafiltration ont été utilisées et leurs performances évaluées. Si le chauffage ohmique permet de stabiliser l'eau de coco (inactivation totale des enzymes et valeurs stérilisatrices élevées), il provoque des modifications non négligeables du profil en composés volatils du produit. La formation notamment de la 3-pentèn-2-one suit une réaction d'ordre 1 et s'accumule dans le produit tout au long de la phase isotherme de traitement. Par ailleurs, pour des barèmes de stérilisation sévères, la présence de composés issus de la dégradation de Strecker, intermédiaires importants de la réaction de Maillard a été notée.

L'ultrafiltration, technique de stérilisation douce, opérant à température ambiante, permet également de stabiliser l'eau de coco. La membrane sélectionnée parmi les quatre membranes en céramique testées (diamètres de pores 10, 20, 50 et 100 nm) dispose d'un diamètre de pores de 20 nm. Elle présente des taux de rétention enzymatique de 99,9% \pm 1,0% pour la POD et de 100% \pm 0,0% pour la PPO. La densité de flux obtenu en mode recyclage total du perméat est de 135,3 L.h⁻¹.m⁻². Les taux de rétention des sucres, dans ces conditions, restent inférieurs à 10%. Le profil en composés volatils de l'eau de coco filtrée, est proche de celui de l'eau de coco non filtrée. Seule la famille des esters est retenue par la membrane (taux de rétention de 40%) et dans une moindre mesure celle des cétones (20%).

Ainsi, la réponse à notre seconde question de recherche est positive : l'eau de coco peut être stabilisée soit par chauffage ohmique à haute température, soit par ultrafiltration tangentielle. A ce jour, ces deux techniques présentent des performances équivalentes en termes de préservation des critères de qualité physico-chimiques et d'inactivations enzymatiques. Cependant, elles montrent également toutes deux des faiblesses vis-à-vis de la préservation de la qualité organoleptique du produit : une accumulation de certaines molécules de types cétones dans l'eau de coco traitée par chauffage ohmique, une rétention d'une partie de la famille des molécules de types esters lors de l'ultrafiltration. Par ailleurs, la

durée de vie du produit obtenu reste à étudier. Des études complémentaires de stockage à températures ambiante et réfrigérée de l'eau de coco traitée par chauffage ohmique ou ultrafiltration sont indispensables à la validation de l'efficacité de ces techniques.

De nombreuses perspectives de recherche sont ouvertes suite à ce travail. Une partie de la biodiversité des cocotiers est aujourd'hui préservée au sein de 8 collections internationales gérées par 8 pays constitués en réseau : le Coconut Genetic Resources Network (COGENT) sous l'égide de Bioversity International. Certaines de ces collections pourraient probablement être utilisées comme base scientifique pour la réalisation de projets de caractérisation des variétés en vue de la valorisation de leur eau de coco.

La caractérisation du produit nécessite encore des travaux, notamment en analyse sensorielle et/ou en olfactométrie couplée à de la chromatographie en phase gazeuse. Il est en effet impératif à ce stade, de relier les composés volatils nouvellement identifiés dans l'eau de coco à leur signification sensorielle.

Ce travail permettra de mieux cibler les marqueurs de suivi des procédés de stabilisation. Identifier les molécules responsables de l'arôme « eau de coco » permettrait de suivre leur cinétique réactionnelle lors de traitements thermiques et de mieux contrôler les paramètres du procédé de stabilisation. Enfin, les essais exploratoires menés en ultrafiltration sur les effets de la température devront être consolidés et les modifications du rétentat pourront faire l'objet d'un suivi en temps réel à l'aide, par exemple, d'un outil de spectrophotométrie proche infrarouge.

Les avancées dans le domaine du chauffage ohmique, notamment la nouvelle génération d'équipements proposés par GEA-Process Engineering (Montigny-le-Bretonneux, France) et Emmepiemme (Piacenza, Italie), devrait encore améliorer les performances de cette opération en terme de préservation des qualités nutritionnelles et organoleptiques des produits. Cette nouvelle technologie, spécialement dédiée aux produits laitiers, pourrait être testée sur l'eau de coco mais également sur le lait de coco, produit difficile à traiter car très encrassant.

L'ultrafiltration, couplée à de l'osmose inverse, pourrait probablement, à conditions de trouver et sélectionner une membrane adéquate, améliorer la qualité du produit. Un couplage

chauffage ohmique/ultrafiltration serait certes économiquement peu rentable mais les enzymes détruites par un premier traitement thermique léger et ultra-rapide, ne viendraient plus dégrader le produit durant sa filtration. Et les composés volatils indésirables, éventuellement formés lors du chauffage ohmique, seraient en partie retenus par la membrane d'ultrafiltration.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Références

- Abreu, L. F., Araujo, A. V., Araujo, E. A. F., El Aouar, A. A., Neumann, D., Morais, M. M., & Silva, M. A. A. P. d. (2005). Sensorial profile and acceptance of coconut water samples obtained from different manufacturing processes - Perfil sensorial e aceitabilidade de amostras de agua-de-coco obtidas por diferentes processos de fabricacao. *Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos*, 23 (2), 397-412.
- Abreu, L., F., & Faria, J., de, A. F. (2007). Temperature and ascorbic acid effects in physico-chemical stability and enzymatic activity of coconut water (*Cocos nucifera* L.) aseptic filled - Influencia da temperatura e do acido ascorbico sobre a estabilidade fisico-quimica e atividade enzimatica da agua de coco (*Cocos nucifera* L.) acondicionada assepticamente. *Ciencia e Tecnologia de Alimentos*, 27 (2), 226-232.
- Achour, M. (2006). A new method to assess the quality degradation of food products during storage. *Journal of Food Engineering*, 75 (4), 560-564.
- Alaban, C. A. (1962). Studies on the optimum conditions for "nata de coco" bacterium or "nata" formation in coconut water. *The Philippine Agriculturist*, 45 (9), 490-516.
- Al-Khayri, J., Huang, F., Morelock, T., & Busharar, T. (1992). Spinach tissue culture improved with coconut water. *HortScience*, 27 (4), 357-358.
- Alleyne, T., Roache, S., Thomas, C., & Shirley, A. (2005). The control of hypertension by use of coconut water and mauby: two tropical food drinks. *West Indian medical journal*, 54 (1), 3-8.
- Angeles, O. R., Baraquio, W. L., Dalmacio, I. F., & Segubre, E. M. (2000). *Optimization and cost of xanthan gum production from coconut water by Xanthomonas campestris pv. campestris NRRL 1459.*: 29. Annual Convention of the Philippine Society for Microbiology, Inc. Laoag, Ilocos Norte (Philippines). 10-11 May 2000.
- Anith, K. N. (2009). Mature coconut as a bio-fermentor for multiplication of plant growth promoting rhizobacteria. *Current Science*, 97 (11), 1647-1653.
- Anonyme. (2006). Les techniques membranaires à gradient de pression. In (pp. 13). France: DABEE, Département Industrie et Agriculture, ADEME.
- Anthon, G. E., & Barrett, D. M. (2002). Kinetic parameters for the thermal inactivation of quality-related enzymes in carrots and potatoes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50 (14), 4119-4125.
- Anurag, P., Sandhya, V., G., & Rajamohan, T. (2007). Cardioprotective effect of tender coconut water. *Indian Coconut Journal*, 37 (9), 22-25.
- Anzaldo, F. E., Kintinar, Q. L., Recto, P. M., Velasco, R. U., De La Cruz, F., & Jacalne, A. (1985). Coconut water as intravenous fluid. *The Philippine Journal of Coconut Studies*, 10 (1), 31-43.

- Apshara, S., E, Kumaran, P., M, Arunachalam, V., & Jayabose, C. (2007). Evaluation of coconut hybrids for suitability as tender nut. *Indian Coconut Journal*, 38 (7), 20-23.
- Aragao, G. M. F., Corradini, M. G., Normand, M. D., & Peleg, M. (2007). Evaluation of the Weibull and log normal distribution functions as survival models of *Escherichia coli* under isothermal and non isothermal conditions. *International Journal of Food Microbiology*, 119 (3), 243-257.
- Assa, R. R., Konan, J. L., Nemlin, J., Prades, A., Agbo, N. z., & Sie, R. S. (2006). Diagnostic de la cocoteraie paysanne du littoral ivoirien. *Sciences & Nature*, 3 (2), 113-120.
- Assa, R. R., Konan, J. L., Agbo, N., Prades, A., & Nemlin, J. (2007). Caractéristiques physico-chimiques de l'eau des fruits de quatre cultivars de cocotier (*Cocos nucifera* L.) en Côte d'Ivoire. *Agronomie Africaine*, 19 (1), 41-51.
- Assa, R. R., Konan K., J. L., Prades, A., Nemlin, J., & Koffi, E. (2010). Physicochemical characteristics of kernel during fruit maturation of four coconut cultivars (*Cocos nucifera* L.). *African Journal of Biotechnology*, 9 (14), 2136-2144.
- Augustine, S. P. (2007). Wine produced using tender coconut and product. In. Inde.
- Ayadi, M. A., Leuliet, J. C., Chopard, F., Berthou, M., & Lebouche, M. (2004). Electrical conductivity of whey protein deposit. Xanthan gum effect on temp. dependency. *Food and Bioproducts Processing*, 82 (C4), 320-325.
- Banzon, A. J., Gonzalez, O. N., De Leon, S. Y., & Sanders, P. C. (1990). *Coconut as food*. Quezon City, Philippines.
- Batugal, P. A., Ramanatha Rao, V., & Bong, C. (1996). Promoting multi-purpose uses and competitiveness of the coconut. In P. A. Batugal, V. Ramanatha Rao & C. E. Bong (Eds.), (pp. 190). Chumphon, Thaïlande: IPGRI.
- Benabderrahmane, Y., & Pain, J.-P. (2000). Thermal behaviour of a solid/liquid mixture in an ohmic heating sterilizer - slip phase model. *Chemical Engineering Science*, 55 (8), 1371-1384.
- Ben-Lalli, A., Meot, J. M., Collignan, A., & Bohuon, P. (2011). Modelling heat-disinfestation of dried fruits on "biological model" larvae *Ephestia kuehniella* (Zeller). *Food Research International*, 44 (1), 156-166.
- Berthou, M., Laurent, M. H., & Hebert, S. (1998). Procédé de détermination du comportement électrochimique d'un matériau d'électrode et de mesure de chute de potentiel interfacial électrode/solution dans les conditions de chauffage ohmique, dispositif et applications à cet effet. EDF, FR 9803154.
- Berthou, M., Laurent, M. H., & Hebert, S. (1999). Procédé de détermination du comportement électrochimique d'un matériau d'électrode et de mesure de chute de potentiel interfacial, procédé et dispositif de chauffage ohmique et application de matériaux à cet effet. EDF, EP0942629A1.
- Bertrand, D., & Dufour, E. (2000). *La spectroscopie infrarouge et ses applications analytiques*. Paris.

- Bimbenet, J. J., & Granier, P. (1977). *Osmose inverse et ultrafiltration dans les industries alimentaires*. Massy, France.
- Boekel, M. A. J. S. v. (2002). On the use of the Weibull model to describe thermal inactivation of microbial vegetative cells. *International Journal of Food Microbiology*, 74 (1/2), 139-159.
- Boekel, M. A. J. S. v. (2009). *Kinetic modeling of reactions in foods*. Boca Raton, USA: CRC Press.
- Bosnjak, M., Pintar, P., & Gomercic, K. (1991). Gradient fed batch culture as efficient microbial oxidation method. *Mededelingen van de Faculteit Landbouwwetenschappen Rijksuniversiteit Gent*, 56 (4b), 1723-1729.
- Bourdeix, R., N'Cho, Y. P., Sangare, A., Baudoin, L., & De Nucé de Lamothe, M. (1992). The improved PB121 coconut hybrid, a cross between the Malayan Yellow Dwarf and selected West African Tall. *Oléagineux*, 47 (11), 619-630.
- Bourdeix, R., Konan, J. L., & N'Cho, Y. P. (2005). *Coconut: a guide to traditional and improved varieties*. Montpellier: Diversiflora.
- Brito, N. M., Navickiene, S., Polese, L., Jardim, E. F. G., Abakerli, R. B., & Ribeiro, M. L. (2002). Determination of pesticide residues in coconut water by liquid-liquid extraction and gas chromatography with electron-capture plus thermionic specific detection and solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection. *Journal of Chromatography A*, 957 (2), 201-209.
- Budhiono, A., Rosidi, B., Taher, H., & Iguchi, M. (1999). Kinetic aspects of bacterial cellulose formation in nata-de-coco culture system. *Carbohydrate Polymers*, 40, 137-143.
- Bustamante, J. O. (2004). New biotechnological applications of coconuts. *Electronic Journal of Biotechnology*, 7 (1), 5.
- Campbell-Falck, D., Thomas, T., Falck, T. M., Tutuo, N., & Clem, K. (2000). The intravenous use of coconut water. *The American Journal of Emergency Medicine*, 18 (1), 108-111.
- Campos, C. F., Souza, P. E. A., Coelho, J. V., & Gloria, M. B. A. (1996). Chemical composition, enzyme activity and effect of enzyme inactivation on flavor quality of green coconut water. *Philippine Journal of Coconut Studies*, 20 (6), 487-500.
- Cassano, A., Figoli, A., Tagarelli, A., Sindona, G., & Drioli, E. (2006). Integrated membrane process for the production of highly nutritional kiwifruit juice. *Desalination*, 189 (1-3), 21-30.
- Cassano, A., & Drioli, E. (2007). Concentration of clarified kiwifruit juice by osmotic distillation. *Journal of Food Engineering*, 79 (4), 1397-1404.
- Cassano, A., Donato, L., Conidi, C., & Drioli, E. (2008). Recovery of bioactive compounds in kiwifruit juice by ultrafiltration. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 9 (4), 556-562.

- Cassano, A., Conidi, C., & Drioli, E. (2011). Clarification and concentration of pomegranate juice (*Punica granatum* L.) using membrane processes. *Journal of Food Engineering*, 107 (3-4), 366-373.
- Castro, I., Macedo, B., Teixeira, J. A., & Vicente, A. A. (2004). The Effect of Electric Field on Important Food-processing Enzymes: Comparison of Inactivation Kinetics under Conventional and Ohmic Heating. *Journal of Food Science*, 69 (9), C696-C701.
- Cen, H., He, Y., & Huang, M. (2006). Measurement of Soluble Solids Contents and pH in Orange Juice Using Chemometrics and Vis-NIRS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54 (20), 7437-7443.
- Cen, H., Bao, Y., He, Y., & Sun, D.-W. (2007). Visible and near infrared spectroscopy for rapid detection of citric and tartaric acids in orange juice. *Journal of Food Engineering*, 82 (2), 253-260.
- Cerami, A., Vlassara, H., & Brownlee, M. (1988). Role of advanced glycosylation products in complications of diabetes. *Diabetes care*, 11 Suppl 1, 73-79.
- Cesario, M. C. d. P., Andrade, M. V. V., Coelho, A. A., Pereira, S. M. d. F., Martins, M. L. L., & Henry, F. d. C. (2009). Physicochemical evaluation of coconut water. *Higiene Alimentar*, 23 (176/177), 39-42.
- Chandrasekharan, V. G., Remany, G., & Mathew, T. M. (2004). Exploring Trade Opportunities for coconut Products - An Experience From New Delhi. *Indian Coconut Journal*, 35 (4), 22-24.
- Chavalittamrong, B., Pidatcha, P., & Thavisri, U. (1982). Electrolytes, sugar, calories, osmolarity and pH of beverages and coconut water. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine Public Health*, 13 (3), 427-431.
- Cheryan, M. (1998). *Ultrafiltration and microfiltration handbook*. Lancaster, USA.
- Chikkasubbanna, V., Jayaprasad, K. V., Subbaiah, T., & Poonacha, N. M. (1990). Effect of maturity on the chemical composition of tender coconut (*Cocos nucifera* L. var. Arsikere Tall) water. *Indian Coconut Journal*, 20 (12), p.10-13.
- Child, R., & Nathanel, W. R. M. (1950). Changes in the sugar composition of coconut water during maturation and germination. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 1 (11), 326-329.
- Chowdhury, M. M., Aziz, M. G., & Uddin, M. B. (2005). Development of Shelf-stable Ready-to-serve Green Coconut Water. *Biotechnology*, 4 (2), 121-125.
- Cisse, M., Vaillant, F., Bouquet, S., Pallet, D., Lutin, F., Reynes, M., & Dornier, M. (2011). Athermal concentration by osmotic evaporation of roselle extract, apple and grape juices and impact on quality. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 12 (3), 352-360.
- Cisse, M., Vaillant, F., Pallet, D., & Dornier, M. (2011). Selecting ultrafiltration and nanofiltration membranes to concentrate anthocyanins from roselle extract (*Hibiscus sabdariffa* L.). *Food Research International*, 44 (9), 2607-2614.

- Colahan-Sederstrom, P. M., & Peterson, D. G. (2005). Inhibition of key aroma compound generated during ultrahigh-temperature processing of bovine milk via epicatechin addition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53 (2), 398-402.
- Colaric, M., Veberic, R., Stampar, F., & Hudina, M. (2005). Evaluation of peach and nectarine fruit quality and correlations between sensory and chemical attributes. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85 (15), 2611-2616.
- Consignado, T. O., Tabora, P. C., & Creencia, R. P. (1976). Physico-chemical changes in stored young coconut. *Philippine Agriculturist*, 60, 256-270.
- Coomans, P. (1975). Influence des facteurs climatiques sur les fluctuations saisonnières et annuelles de la production du cocotier. *Oléagineux*, 30 (4), 153-159.
- Corradini, M. G., & Peleg, M. (2004). A model of non-isothermal degradation of nutrients, pigments and enzymes. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84 (3), 217-226.
- Costa, L. M. C., Maia, G. A., Costa, J. M. C., Figueiredo, R. W., de, & Souza, P. H. M., de. (2005). Evaluation of coconut water obtained by different methods of conservation - Avaliacao de agua-de-coco obtida por diferentes metodos de conservacao. *Ciencia e Agrotecnologia (Brazil)*, 29 (6), 1239-1247.
- Costa, L., M, C, Maia, G., A, Costa, J., M, C, da, Figueiredo, R., W, de, Rodrigues, M., do, C, P, Sousa, P., H, M, de, & Pinheiro, A., M. (2006). Qualidade e vida de prateleira da agua de coco obtida pelo processo de enchimento a quente. *Revista Brasileira de Armazenamento*, 31 (1), 95-102.
- Crouzet, J., & Seck, S. (1982). Tomato aroma biochemical and chemical mechanisms of formation of constituents. *Parfums, Cosmetiques, Aromes* (44), 71-74, 77-79, 81-84.
- Da Fonseca, A., Monte, F., de Oliveira, M., de Mattos, M., Cordell, G., Braz, R., & Lemos, T. (2009a). Coconut water (*Cocos nucifera* L.)-A new biocatalyst system for organic synthesis. *Journal of molecular catalysis b-enzymatic*, 57 (1-4), 78-82.
- Da Fonseca, A. M., Bizerra, A. M. C., Souza, J. S. N. d., Monte, F. J. Q., Oliveira, M. d. C. F. d., Mattos, M. C. d., Cordell, G. A., Braz-Filho, R., & Lemos, T. L. G. (2009b). Constituents and antioxidant activity of two varieties of coconut water (*Cocos nucifera* L.). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 19, 193-198.
- Da Silva, F., V, G, Maia, G., A, Sousa, P., H, M, de, Lima, A., da, S, Costa, J., M, C, da, & Figueiredo, E., A, T, de. (2006a). Evaluation of the stability of mixed beverage elaborated with coconut water and passion fruit juice - Avaliacao da estabilidade de bebida mista elaborada com agua de coco e suco de maracuja. *Acta Scientiarum Technology*, 28 (2), 191-197.
- Da Silva, R. A., Cavalcante, L. F., Holanda, J. S. d., Pereira, W. E., Moura, M. F. d., & Ferreira neto, M. (2006b). Fruits quality of green dwarf coconut fertirrigation with nitrogen and potassium. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 28 (2), 310-313.

- Da Silva, D. L. V., Alves, R. E., Figueiredo, R. W. d., Maciel, V. T., Farias, J. M. d., & Aquino, A. R. L. d. (2009). Características físicas, físico-químicas e sensoriais da água de frutos de coqueiro anão verde oriundo de produção convencional e orgânica. *Ciência e Agrotecnologia*, 33, 1079-1084.
- Damar, S., Balaban, M., & Sims, C. (2009). Continuous dense-phase CO₂ processing of a coconut water beverage. *International Journal of Food Science and Technology*, 44 (4), 666-673.
- De Assis, J. S., Resende, J. M., Oliveira e Silva, F., Ribeiro dos Santos, C., & Nunes, F. (2000). Harvest and post-harvest techniques for green coconut. - Técnicas para colheita e pos-colheita do coco verde. *Comunicado Técnico da Embrapa Semi-Arido* (No.95), 6 pp.
- De Carvalho, J., M., Maia, G., A, de Sousa, P., H, M., & Maia, J., G, A. (2006a). Water of coconut: nutritional and functional properties and processing - Água-de-coco: propriedades nutricionais, funcionais e processamento. *Semina: Ciências Agrárias Londrina*, 27 (3), 437-452.
- De Carvalho, J. M., Maia, G. A., Brito, E. S. d., Crisostomo, L. A., & Rodrigues, S. (2006b). Composicao mineral de bebida mista a base de agua-de-coco e suco de caju clarificado.; Mineral composition of mixed drink composed of coconut water and clarified cashew apple juice. *Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos*, 24 (1), 1-12.
- De Carvalho, J., Maia, G., De Figueiredo, R., De Brito, E., & Rodrigues, S. (2007a). Storage stability of a stimulant coconut water-cashew apple juice beverage. *Journal of Food Processing and Preservation*, 31 (2), 178-189.
- De Carvalho, J., Maia, G., Figueiredo, R. D., Brito, E. D., & Rodrigues, S. (2007b). Development of a blended beverage consisting of coconut water and cashew apple juice containing caffeine. *International Journal of Food Science and Technology*, 42 (10), 1195-1200.
- De Gallardo, J. E., Andres, R. M., & Magno, E. T. (1971). A study on the isolation and screening of microorganisms for production of diverse-textured nata. *Philippine Journal of Science*, 100 (1), 41-51.
- De Kruijff, E. (1906). Composition of coconut water and presence of diastase in coconuts. *Bulletin du département de l'agriculture aux Indes néerlandaises*, 4, 1-8.
- De Leon, S. Y., & Delores, M. I. (2005). Coconut. In D. M. Barrett, L. P. Somogyi & H. S. Ramaswamy (Eds.), *Processing fruits: science and technology* (Second ed., pp. 841). Boc: Boca Raton, Florida.
- De Paiva, J. A. C., Graca, M. P. F., Monteiro, J., Macedo, M. A., & Valente, M. A. (2009). Spectroscopy studies of NiFe₂O₄ nanosized powders obtained using coconut water. *Journal of Alloys and Compounds*, 485 (1-2), 637-641.

- De Sousa, R. A., Silva, J. C., Baccan, N., & Cadore, S. (2005). Determination of metals in bottled coconut water using an inductively coupled plasma optical emission spectrometer. *Journal of Food Composition and Analysis*, 18 (5), 399-408.
- De Taffin, G. (1993). *Le cocotier*. Paris.
- Del Rosario, J. E., Bergonia, H. A., Flavier, M. E., Samonte, J. L., & Mendoza, E. M. T. (1984). Chromatographic analysis of carbohydrates in coconut water. *Transactions of the National Academy of Science and Technology*, 6, 127-151.
- Del Rosario, E. J., Papa, G. M., & Reyes, C. S. (1988). Concentration of coconut water by plate-and-frame reverse osmosis using composite membranes. *Philippine Journal of Coconut Studies*, 13 (2), 36-42.
- Deppenmeier, U., Hoffmeister, M., & Prust, C. (2002). Biochemistry and biotechnological applications of Gluconobacter strains. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 60 (3), 233-242.
- Dhamodaran, S., Ratnambal, M. J., Chempakam, B., Pillai, R. V., & Viraktamath, B. C. (1993). Evaluation of tendernut water in coconut cultivars. In M. K. Nair, H. H. Khan, P. Gopalasundaram & E. N. V. Bhaskana Rao (Eds.), *Advances in Coconut Research and Development* (pp. 759). New Delhi, India: ISOCRAD II Oxford and IBH Publishing Co. PVT Ltd.
- Diop, N. (2005). *Caractérisation physico-chimique de l'eau de la noix de coco verte (Cocos nucifera L.) et essais de stabilisation par techniques membranaires*. Mémoire de Master, ENSIA-SIARC, Montpellier, France.
- Duarte, A. C. P., Coelho, M. A. Z., & Leite, S. G. F. (2002). Identification of peroxidase and tyrosinase in green coconut water. *Ciencia y Tecnologia Alimentaria*, 3 (5), 266-270.
- Dufossé, L., Latrasse, A., & Spinnler, H. E. (1994). Importance des lactones dans les arômes alimentaires : structure, distribution, propriétés sensorielles et biosynthèse. *Sciences des Aliments*, 14, 17-50.
- Dupaigne, P. (1971). Un jus de fruit peu ordinaire : l'eau de coco. *Fruits*, 26 (9), 625-627.
- Ediriweera, E. R. H. S. S. (2003). Medicinal uses of coconut (Cocos nucifera L.). *Cocoinfo International*, 10 (1), 11-21.
- Engel, E., Lombardot, J. B., Garem, A., Leconte, N., Septier, C., Quere, J. L. I., & Salles, C. (2002). Fractionation of the water-soluble extract of a cheese made from goats' milk by filtration methods: behaviour of fat and volatile compounds. *International Dairy Journal*, 12 (7), 609-619.
- Enonuya, O. M. D. (1988). High performance liquid chromatographic analysis of nutwater syrup fractions from two varieties of Nigerian coconuts (Cocos nucifera, L.). *Nigerian Journal of Palms and Oil Seeds*, 9, 48-58.
- Falabella, J. B., Nair, A., & Teja, A. S. (2006). Henry's constants of 1-alkanols and 2-ketones in salt solutions. *Journal of Chemical and Engineering Data*, 51 (5), 1940-1945.

- Ferreira neto, M., Gheyi, H. R., Holanda, J. S. d., & al., e. (2002). Quality of green coconut fruits in relation to salinity of irrigation water. *Rev. bras. eng. agríc. ambient.*, 6 (1), 69-75.
- Fontan, R. d. C. I., Santos, L. S., Bonomo, R. C. F., Lemos, A. R., Ribeiro, R. P., & Veloso, C. M. (2009). Thermophysical properties of coconut water affected by temperature. *Journal of Food Process Engineering*, 32 (3), 382-397.
- Fortea, M. I., López-Miranda, S., Serrano-Martínez, A., Carreño, J., & Núñez-Delicado, E. (2009). Kinetic characterisation and thermal inactivation study of polyphenol oxidase and peroxidase from table grape (Crimson Seedless). *Food Chemistry*, 113 (4), 1008-1014.
- Fortes, E., P, Lima, A., de, Cronemberger, M., G, de, O, & Crispim, L., da, S. (2006). Physico-chemical and microbiological quality of water of packaged coconuts, commercialized in Teresina, Piaui - Qualidade fisico-quimica e microbiologica das aguas-de-coco envasadas, comercializadas em Teresina, Piaui. *Higiene Alimentar*, 20 (141), 87-90.
- Fowler, A. (1882). Apparatus for preserving meats. US Patent 267685.
- Fox, P. F. (1991). *Food enzymology. Volume I*, UK; Elsevier Science Publishers Ltd.
- Gabriel, A. A., Cruz, K. G. S., & Guzman, J. A. D. D. (2009). Thermal death times of *Escherichia Coli* in young coconut endosperm beverage. *Journal of Food Processing and Preservation*, 33 (s1), 136-144.
- Garcia, B., Masa, D. B., Rodriguez, M. J., & Rolle, R. (2007). Control of pink discoloration in coconut water. *Cord*, 23 (2), 67-83.
- Gatchalian, M. M., De Leon, S. Y., & Yano, T. (1993). Comparative Profiles of young coconut (*Cocos nucifera*, L.) from fresh and stored nuts. *Food Quality and Preference*, 4, 193-200.
- Ge, L., Wan Hong Yong, J., Tan, S. N., Yang, X. H., & Ong, E. S. (2004). Analysis of some cytokinins in coconut (*Cocos nucifera* L.) water by micellar electrokinetic capillary chromatography after solid-phase extraction. *Journal of Chromatography A*, 1048 (1), 119-126.
- Ge, L., Yong, J. W. H., Goh, N. K., Chia, L. S., Tan, S. N., & Ong, E. S. (2005). Identification of kinetin and kinetin riboside in coconut (*Cocos nucifera* L.) water using a combined approach of liquid chromatography-tandem mass spectrometry, high performance liquid chromatography and capillary electrophoresis. *Journal of Chromatography B*, 829 (1-2), 26-34.
- Ge, L., Yong, J. W. H., Tan, S. N., Yang, X. H., & Ong, E. S. (2006a). Analysis of cytokinin nucleotides in coconut (*Cocos nucifera* L.) water using capillary zone electrophoresis-tandem mass spectrometry after solid-phase extraction. *Journal of Chromatography A*, 1133 (1-2), 322-331.

- Ge, L., Yong, J. W. H., Tan, S. N., & Ong, E. S. (2006b). Determination of cytokinins in coconut (*Cocos nucifera* L.) water using capillary zone electrophoresis-tandem mass spectrometry. *Electrophoresis*, 27 (11), 2171-2181.
- Ge, L., Peh, C. Y. C., Yong, J. W. H., Tan, S. N., Hua, L., & Ong, E. S. (2007). Analyses of gibberellins by capillary electrophoresis-mass spectrometry combined with solid-phase extraction. *Journal of Chromatography A*, 1159 (1-2), 242-249.
- Ge, L., Yong, J. W. H., Tan, S. N., Hua, L., & Ong, E. (2008). Analyses of gibberellins in coconut (*Cocos nucifera* L.) water by partial filling-micellar electrokinetic chromatography-mass spectrometry with reversal of electroosmotic flow. *Electrophoresis*, 29 (10), 2126-2134.
- Glover, K. (2009). Coke follows peps into coconut water market. CBS Interactive Business Network. Consulté en décembre 2009.
- Gobin, A., Falade, K., & Akingbala, J. (2009). Effect of packaging on physical, chemical and sensory attributes of coconut water during storage. *Journal of food agriculture & environment*, 7 (1), 62-65.
- Golan, A., Kahn, V., & Sadoski, A. Y. (1977). Relationship between Polyphenols and Browning in Avocado Mesocarp. Comparison between the Fuerte and Lerman Cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 25 (6), 1253-1260.
- Goldsmith, H. S. (1961). Coco-nut water for intravenous therapy. *The British Journal of Surgery*, 49 (216), 421-422.
- Goullieux, A., & Pain, J. P. (2005). Ohmic heating. In D. W. Sun (Ed.), *Emerging technologies for food processing* (pp. 469-506): Academic Press, Elsevier Ltd.
- Gutiérrez, A. J. E., & Gaudillère, J. P. (1996). Distribution, métabolisme et rôle du sorbitol chez les plantes supérieures. Synthèse. *Agronomie*, 16 (5), 281-296.
- Hegde, S. V. (1996). Bio-confectionaries from coconut water. *Indian Food Packer*, 50-52.
- Heller, L. (2009). PepsiCo Brazil acquisition to make it coconut water leader. In *AP-Food Technology* (Decision News Media ed.): Decision News Media.
- Henry, P. (1957). *Recherches sur la croissance et le développement chez Elaeis guineensis Jacq. et chez Cocos nucifera L. Comparaisons avec quelques autres palmiers*. Unpublished Thèse, Université de Paris-Faculté des sciences, Orsay, France.
- Hinkova, A., Bohacenko, I., Bubnik, Z., Hrstkova, M., & Jankovska, P. (2004). Mineral membrane filtration in refinement of starch hydrolysates. *Journal of Food Engineering*, 61 (4), 521-526.
- Ho, C. W., Wan Aida, W. M., Maskat, M. Y., & Osman, H. (2006). Optimization of headspace solid phase microextraction (HS-SPME) for gas chromatography mass spectrometry (GC-MS) analysis of aroma compound in palm sugar (*Arenga pinnata*). *Journal of Food Composition and Analysis*, 19 (8), 822-830.

- Hofmann, T., & Schieberle, P. (1995). Studies on the Formation and Stability of the Roast-Flavor Compound 2-Acetyl-2-thiazoline. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43 (11), 2946-2950.
- Hsiao, G., Shen, M.-Y., Lin, K.-H., Chou, C.-Y., Tzu, N.-H., Lin, C.-H., Chou, D.-S., Chen, T.-F., & Sheu, J.-R. (2003). Inhibitory activity of kinetin on free radical formation of activated platelets in vitro and on thrombus formation in vivo. *European Journal of Pharmacology*, 465 (3), 281-287.
- Huang, X., Duan, H., & Barringer, S. A. (2011). Effects of buffer and temperature on formation of furan, acetic acid and formic acid from carbohydrate model systems. *LWT - Food Science and Technology*, 44 (8), 1761-1765.
- Icier, F., Yildiz, H., & Baysal, T. (2006). Peroxidase inactivation and colour changes during ohmic blanching of pea puree. *Journal of Food Engineering*, 74 (3), 424-429.
- Icier, F., Yildiz, H., & Baysal, T. (2008). Polyphenoloxidase deactivation kinetics during ohmic heating of grape juice. *Journal of Food Engineering*, 85 (3), 410-417.
- Iguchi, M., Yamanaka, S., & Budhiono, A. (2000). Bacterial cellulose: a masterpiece of nature's arts. *Journal of materials science*, 35 (2), 261-270.
- Jackson, J. C., Gordon, A., Wizzard, G., McCook, K., & Rolle, R. (2004). Changes in the chemical composition of coconut (Cocos nucifera) water during maturation of the fruit. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84 (9), 1049-1052.
- Jaddou, H., Mhaisen, M. T., & Al-Hakim, M. (1984). Flavour volatile analysis of Zahdi dates by gas liquid chromatography. *Date Palm Journal*, 3 (2), 367-379.
- Jagannath, A., Kalaiselvan, A., Manjunatha, S. S., Raju, P. S., & Bawa, A. S. (2008). The effect of pH, sucrose and ammonium sulphate concentrations on the production of bacterial cellulose (nata-de-coco) by *Acetobacter xylinum*. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 24 (11), 2593-2599.
- Jakób, A., Bryjak, J., Wójtowicz, H., Illeová, V., Annus, J., & Polakovic, M. (2010). Inactivation kinetics of food enzymes during ohmic heating. *Food Chemistry*, 123 (2), 369-376.
- Jarimopas, B., & Kusun, P. (2007a). A young-coconut-fruit-opening machine. *Biosystems Engineering*, 98 (2), 185-191.
- Jarimopas, B., & Ruttanadat, N. (2007b). Development of a young coconut fruit trimming machine. *Journal of Food Engineering*, 79 (3), 752-757.
- Jayalekshmy, A., Arumughan, C., Narayanan, C. S., & Mathew, A. G. (1986). Changes in the chemical composition of coconut water during maturation. *Journal of Food Science and Technology*, 23 (4), p.203-207.
- Jayanti, V. K., Rai, P., Dasgupta, S., & De, S. (2010). Quantification of flux decline and design of ultrafiltration system for clarification of tender coconut water. *Journal of Food Process Engineering*, 33 (1), 128-143.

- Jeganathan, M. (1992). Nut water analysis as a diagnostic tool in coconut nutrition studies. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 23 (17-20), 2667-2686.
- Jirovetz, L., Buchbauer, G., & Ngassoum, M. B. (2003). Solid-phase-microextraction-headspace aroma compounds of coconut (*Cocos nucifera* L.) milk and meat from Cameroon. *Ernährung/nutrition*, 27 (7/8), 300-303.
- Johnson, J. R., Braddock, R. J., & Chen, C. S. (1996). Flavor losses in orange juice during ultrafiltration and subsequent evaporation. *Journal of Food Science*, 61 (3), 540-543.
- Jordana, J. (2000). Traditional foods: challenges facing the European food industry. *Food Research International*, 33 (3-4), 147-152.
- Joson, L. (1989). Coconut water utilization. *Coconuts Today*, 7 (97-111).
- Kikuda, A. T., Tadini, C. C., & Fernandes, R. (2002). Modelo de primeira ordem multicomponente para inativação térmica em processo descontínuo da peroxidase e polifenoloxidase presentes na água de coco verde (*Cocos nucifera* L.). In A. d. X. CBCTA (Ed.), *XVIII Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos* (pp. 1776-1779). Porto Alegre, Brazil.
- Kwiatkowski, A., Clemente, E., Scarcelli, A., & Batista, V. (2008). Quality of coconut water 'in natura' belonging to Green Dwarf fruit variety in different stages of development, in plantation on the northwest area of Parana, Brazil. *International journal of food agriculture and environment*, 6 (1), 102-105.
- Lahille, A. (1920). *Bulletin Economique de l'Indochine*, 23, 1-25.
- Lapitan, O. B., & Mabesa, R. C. (1983). Chemical and sensory characteristics of Laguna and Golden coconuts (*Cocos nucifera* L.). *Philippine Agriculturist*, 66, 144-150.
- Lau, M. H., Tang, J., Taub, I. A., Yang, T. C. S., Edwards, C. G., & Mao, R. (2003). Kinetics of chemical marker formation in whey protein gels for studying microwave sterilization. *Journal of Food Engineering*, 60 (4), 397-405.
- Lee, T. H., Chua, L. S., Tan, E. T. T., Yeong, C., Lim, C. C., Ooi, S. Y., Aziz, R. B., Aziz, A. B., & bin Sarmidi, M. R. (2009). Kinetics of Thermal Inactivation of Peroxidases and Polyphenol Oxidase in Pineapple (*Ananas comosus*). *Food Science and Biotechnology*, 18 (3), 661-666.
- Legrand, A., Leuliet, J. C., Duquesne, S., Kesteloot, R., Winterton, P., & Fillaudeau, L. (2007). Physical, mechanical, thermal and electrical properties of cooked red bean (*Phaseolus vulgaris* L.) for continuous ohmic heating process. *Journal of Food Engineering*, 81 (2), 447-458.
- Leizerson, S., & Shimoni, E. (2005a). Effect of ultrahigh-temperature continuous ohmic heating treatment on fresh orange juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53 (9), 3519--3524.
- Leizerson, S., & Shimoni, E. (2005b). Stability and sensory shelf life of orange juice pasteurized by continuous ohmic heating. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53 (10), 4012--4018.

- Leong, L. P., & Shui, G. (2002). An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets. *Food Chemistry*, 76 (1), 69-75.
- Lima, A., Maia, G., de Sousa, P., do Prado, G., & Rodrigues, S. (2009). Storage stability of a stimulant coconut water-acerola fruit juice beverage. *International Journal of Food Science and Technology*, 44 (7), 1445-1451.
- Limacher, A., Kerler, J., Davidek, T., Schmalzried, F., & Blank, I. (2008). Formation of Furan and Methylfuran by Maillard-Type Reactions in Model Systems and Food. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56 (10), 3639-3647.
- Lin, F. M., & Wilkens, W. F. (1970). Volatile flavor components of coconut meat. *Journal of Food Science*, 35 (5), 538-539.
- Lozano, P. R., Drake, M., Benitez, D., & Cadwallader, K. R. (2007). Instrumental and sensory characterization of heat-induced odorants in aseptically packaged soy milk. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55 (8), 3018-3026.
- Luvielmo, M. d. M., Vasconcelos, M. A. M. d., Marques, G. R., Silva, R. P. G. d., & Damasio, M. H. (2004). Influencia do processamento nas características sensoriais da água-de-coco. Influence of processing in the sensorial characteristics of coconut water. *Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos*, 22 (2), 253-270.
- Ma, Z., Ge, L., Lee, A., Yong, J., Tan, S., & Ong, E. (2008). Simultaneous analysis of different classes of phytohormones in coconut (*Cocos nucifera* L.) water using high-performance liquid chromatography and liquid chromatography-tandem mass spectrometry after solid-phase extraction. *Analytica chimica acta*, 610 (2), 274-281.
- Maciel, M. I., Oliveira, S. L., & Da Silva, I. P. (1992). Effects of different storage conditions on preservation of coconut (*Cocos nucifera*) water. *Journal of Food Processing and Preservation*, 16, 13-22.
- Magalhaes, M. P., Gomes, F. d. S., Modesta, R. C. D., Matta, V. M. d., & Cabral, L. M. C. (2005). Conservation of green coconut water by membrane filtration. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, 25 (1), 72-77.
- Magat, S. S. (1988). Coconut productivity factors: environment, nutrition and crop variety. *Coconuts Today*, 45-53.
- Magda, R. R. (1992). Coco-softdrink: health beverage from coconut water. *Food Marketing & Technology*, 22-23.
- Mandal, S., Dey, S., Mandal, M., Sarkar, S., Maria-Neto, S., & Franco, O. (2009). Identification and structural insights of three novel antimicrobial peptides isolated from green coconut water. *Peptides*, 30 (4), 633-637.
- Mantena, S. K., Jagadish, Badduri, S. R., Siripurapu, K. B., & Unnikrishnan, M. K. (2003). *In vitro* evaluation of antioxidant properties of *Cocos nucifera* Linn. water. *Nahrung*, 47 (2), 126-131.

- Marinho, F., J. L., Gheyi, H., R., Fernandes, P., D., Holanda, J., S. de, & Ferreira, N., M. (2006). Production of 'Anao Verde' coconut irrigated with saline water - Cultivo de coco 'Anao Verde' irrigado com aguas salinas. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, 41 (8), 1277-1284.
- Matsui, K. N., Granado, L. M., de Oliveira, P. V., & Tadini, C. C. (2007). Peroxidase and polyphenol oxidase thermal inactivation by microwaves in green coconut water simulated solutions. *LWT - Food Science and Technology*, 40 (5), 852-859.
- Matsui, K., N., Gut, J., A. W., Oliveira, P., V. de, & Tadini, C., C. (2008). Inactivation kinetics of polyphenol oxidase and peroxidase in green coconut water by microwave processing. *Journal of Food Engineering*, 88 (2), 169-176.
- Mazida, M. M., Salleh, M. M., & Osman, H. (2005). Analysis of volatile aroma compounds of fresh chilli (*Capsicum annuum*) during stages of maturity using solid phase microextraction (SPME). *Journal of Food Composition and Analysis*, 18 (5), 427-437.
- Miyazaki, T., Plotto, A., Goodner, K., & Gmitter, F. G., Jr. (2011). Distribution of aroma volatile compounds in tangerine hybrids and proposed inheritance. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91 (3), 449-460.
- Montenegro, H. M. (1985). Coconut oil and its byproducts. *Journal of American Oil Chemistry and Science*, 62 (2), 259-261.
- Müller, H. (1907). CLXVI.—Cocositol (cocosite), a constituent of the leaves of *Cocos nucifera* and *cocos plumosa*. *Journal of the Chemical Society, Transactions*, 91, 1767-1780.
- Munch L., Coquelet C., Zaïd I., Flach-Malaspina N. (2009). Efficacité énergétique des opérations de chauffage des liquides alimentaires. In: Techniques de l'Ingénieur (Ed.), *Génie industriel alimentaire*, Paris, F1280.
- Murasaki-Aliberti, N. D., da Silva, R. M. S., Gut, J. A. W., & Tadini, C. C. (2009). Thermal inactivation of polyphenoloxidase and peroxidase in green coconut (*Cocos nucifera*) water. *International Journal of Food Science and Technology*, 44 (12), 2662-2668.
- Nadanasabapathy, S., & Kumar, R. (1999). Physico-chemical constituents of tender coconut (*Cocos nucifera*) water. *Indian Journal of Agricultural Sciences*, 69 (10), 750-751.
- Nanda Kumar, T. B. (1990). Tender coconut water : nature's finest drink. *Indian Coconut Journal*, 21 (4), p.14-18.
- Naozuka, J., Murasaki, N. C., Tadini, C. C., & De Oliveira, P. V. (2004). Estudo da Influência de Processos de Conservação na Distribuição de Espécies Elementares em Água de Coco. In A. d. X. CBCTA (Ed.), *XIX Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos*. Recife, Brazil.
- Nathanael, W. R. N. (1952). The sugars of coconut water. *Ceylon Coconut Quarterly*, 3, 193-199.

- Nevin, K. G., & Rajamohan, T. (2006). Virgin coconut oil supplemented diet increases the antioxidant status in rats. *Food Chemistry*, 99 (2), 260-266.
- Nishi, Y., Uryu, M., Yamanaka, S., Watanabe, K., Kitamura, N., Iguchi, M., & Mitsunashi, S. (1990). The structure and mechanical properties of sheets prepared from bacterial cellulose. II. Improvement of the mechanical properties of sheets and their applicability to diaphragms of electroacoustic transducers. *Journal of materials science*, 25 (6), 2997-3001.
- Nunes, B. N., Cruz, A. G., Faria, J. A. F., Sant' Ana, A. S., Silva, R., & Moura, M. R. L. (2010). A survey on the sanitary condition of commercial foods of plant origin sold in Brazil. *Food Control*, 21 (1), 50-54.
- Obermeyer, H. D., Kulozik, U., & Kessler, H. G. (1993). Controlled deposit formation to influence the retention of solutes in reverse osmosis and ultrafiltration. *Desalination*, 90 (1/3), 161-172.
- Ogundiya, M. O. (1991). Glucose content of nut water in four varieties of coconut palm (*Cocos nucifera*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 56 (3), 399-402.
- Ohler, J. G. (1999). Modern coconut management. Palm cultivation and products. In (pp. 458). Rome: FAO.
- Osazuwa, O. E., & Ahonkhai, I. (1989). Coconut water as growth medium for micro-organisms. *Nigerian Journal of Palms and Oil Seeds*, 10-11, p.91-95.
- Ouvrier, M. (1984). Exportation par la récolte du cocotier PB-121 en fonction de la fumure potassique et magnésienne. *Oléagineux*, 39 (5), 263-268.
- Pagel, G. (2004). Brazil's coconut water coming to a store near you. In *Brazzil Magazine*.
- Patriarca, A., Larumbe, G., Buera, M. P., & Vaamonde, G. (2011). Stimulating effect of sorbitol and xylitol on germination and growth of some xerophilic fungi. *Food Microbiology*, 28 (8), 1463-1467.
- Perez-Cacho, P. R., & Rouseff, R. (2008). Processing and Storage Effects on Orange Juice Aroma: A Review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56 (21), 9785-9796.
- Pfannhauser, W., Eberhardt, R., & Woidich, H. (1982). Aroma analysis in food chemistry by GC/MS techniques: determination of natural and artificial coconut flavour. *Mikrochimica Acta*, 1 (3/4), p.159-167.
- Pieris, W. V. D. (1971). L'eau de coco, constituant liquide de l'endosperme de la noix de coco. Note sur la terminologie. *Oléagineux*, 26 (6), 383-390.
- Pinheiro, A. M., Machado, P. H., Correia da Costa, J. M., Maia, G. A., Fernandes, A. G., do Carmo Passos Rodrigues, M., & Herreyra Hernandez, F. F. (2005). Caracterização química, físico-química, microbiológica e sensorial de diferentes marcas de água de coco pelo processo aséptico. Chemical, physical-chemical, microbiological and sensorial characterization of different coconut waters obtained by asptic process. *Revista Ciência Agronômica*, 36 (2), 209-214.

- Pollard, J. K., Shantz, E. M., & Steward, F. C. (1961). Hexitols in coconut milk : their role in nurture of dividing cells. *Plant physiology*, 492-501.
- Prades, A., Assa, R. R., Dornier, M., Pain, J. P., & Boulanger, R. (submitted 2011). Characterization of the coconut water volatile profile of five varieties at three stages of maturity using HS-SPME-GC analysis. *Journal of the Science of Food and Agriculture*.
- Prades, A., Dornier, M., Diop, N., & Pain, J. P. (2012a). Coconut water: its uses, properties and composition. Part I. *Fruits*, 67 (2).
- Prades, A., Dornier, M., Diop, N., & Pain, J. P. (2012b). Coconut water: its preservation and processing. Part II. *Fruits*, 67 (3).
- Prakash, L. (2008). Natural ingredients nurture skin health from the inside and out. *NutraCos*, 7 (4), 6-9.
- Pramith, P. (1998). Oil separation from coconut water by microfiltration method. In *Report No. 62 17*. Tsukuba, Ibaraki, Japan: National Food Research Institute.
- Prasad, V., & Reeja, S. (2006). Development of a selective media for Bifidobacteria using coconut water. *Indian Journal of Dairy Science*, 59 (3), 144-150.
- Pue, A. G., Rivu, W., Sundarrao, C., & Singh, K. (1992). Preliminary studies on changes in coconut water during maturation of the fruit. *Science in New Guinea*, 18 (2), 81-84.
- Pummer, S., Heil, P., Maleck, W., & Petroianu, G. (2001). Influence of coconut water on hemostasis. *The American Journal of Emergency Medicine*, 19 (4), 287-289.
- Queiroz, R., Aroucha, E., Tomaz, H., Pontes, F., & Ferreira, R. (2009). Sensorial analyse of the coconut water during the fruits storage of the green dwarf coconut *Revista caatinga*, 22 (2), 1-1.
- Radenahmad, N., Saleh, F., Sawangjaroen, K., Rundorn, W., Withyachumnarnkul, B., & Connor, J. R. (2009). Young coconut juice significantly reduces histopathological changes in the brain that is induced by hormonal imbalance: a possible implication to postmenopausal women. *Histology and Histopathology*, 24 (6), 667-674.
- Raju, V., K., & Zahida, P., M. (2007). Minimal processing of tender coconut. *Indian Coconut Journal*, 37 (10), 22-23.
- Ranasinghe, C. S., & Wimalasekara, R. (2006). Technical guidelines to enhance shlef-life of tender King coconut for the export market. *Indian Coconut Journal*, 37 (7), 17-19.
- Ranasinghe, C. S., Madurapperuma, W. S., Nainanayake, N. P. A. D., Mendis, H. C., & Fernando, W. P. K. K. (2009). Tender coconuts for export market: evaluation of cultivars and improved protocol for extended shelf-life. *Indian Coconut Journal*, 51 (12), 18-25.
- Rao, G. V. S., Naik, B. J., Giridharan, M. P., Stephen, R., & Balakrishnan, P. C. (2008). Identification of superior coconut cultivars suitable for tender nut purpose. *Journal of Plantation Crops*, 36 (3), 204-206.

- Rattan, S. I. S., & Clark, B. F. C. (1994). Kinetin delays the onset of aging characteristics in human fibroblasts. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 201 (2), 665-672.
- Reddy, K. V., Das, M., & Das, S. K. (2005). Filtration resistances in non-thermal sterilization of green coconut water. *Journal of Food Engineering*, 69 (3), 381-385.
- Reddy, K., Das, M., & Das, S. (2007). Nonthermal sterilization of green coconut water for packaging. *Journal of food quality*, 30 (4), 466-480.
- Rethinam, P., & Kumar, T. B. N. (2001). Tender coconut - an overview. *Indian Coconut Journal*, 32 (1), 2-22.
- Richter, E. M., Jesus, D. P. d., Muñoz, R. A. A., Lago, C. L. d., & Angnes, L. (2005). Determination of Anions, Cations, and Sugars in Coconut Water by Capillary Electrophoresis. *Journal of Brazilian Chemical Society*, 16 (6A), 1134-1139.
- Risticevic, S., Carasek, E., & Pawliszyn, J. (2008). Headspace solid-phase microextraction-gas chromatographic-time-of-flight mass spectrometric methodology for geographical origin verification of coffee. *Analytica chimica acta*, 617 (1-2), 72-84.
- Rolle, R. (2007). Good practice for the small-scale production of bottled coconut water. In *Agricultural and food engineering training and resource materials* (pp. 35). Rome: FAO.
- Roux, S., Courel, M., Ait-Ameur, L., Birlouez-Aragon, I. B., & Pain, J. P. (2009). Kinetics of Maillard reactions in model infant formula during UHT treatment using a static batch ohmic heater. *Dairy Science & Technology*, 89 (3-4), 349-362.
- Roux, S., Courel, M., Picart-Palmade, L., & Pain, J.-P. (2010). Design of an ohmic reactor to study the kinetics of thermal reactions in liquid products. *Journal of Food Engineering*, 98 (4), 398-407.
- Saat, M., Singh, R., Gamini Sirisinghe, R., & Nawawi, M. (2002). Rehydration after Exercise with Fresh Young Coconut Water, Carbohydrate-Electrolyte Beverage and Plain Water. *Journal of Physiological Anthropology and Applied Human Science*, 21, 93-104.
- Sabapathy, S., N., & Bawa, A., S. (2007). Standards for packed and preserved tender coconut water. *Indian Coconut Journal*, 38 (1), 2-8.
- Sabularse, V., Montalbo, M., Hernandez, H., & Serrano, E. (2009). Preparation of nata de coco-based carboxymethylcellulose coating and its effect on the post-harvest life of bell pepper (*Capsicum annuum* L.) fruits. *International journal of food sciences and nutrition*, 60 (Suppl. 7), 206-218.
- Salengke, S., & Sastry, S. K. (2007b). Models for ohmic heating of solid-liquid mixtures under worst-case heating scenarios. *Journal of Food Engineering*, 83 (3), 337-355.
- Samsudeen, K., Nirai, V., Jerard, B. A., & Kumaran, P. M. (2006). Native Tendernut Cultivars of Coconut (*Cocos nucifera* L.) from India. *Indian Coconut Journal*, 36 (10), 10-13.

- Sanchez, P. C., Collado, L. S., Gerpacio, C. L., & Lapitan, H. (1985). Village level technology of processing coconut water vinegar. *The Philippine Agriculturist* (68), 439-448.
- Sandhya, V. G., & Rajamohan, T. (2008). Comparative evaluation of the hypolipidemic effects of coconut water and lovastatin in rats fed fat-cholesterol enriched diet. *Food and chemical toxicology*, 46 (12), 3586-3592.
- Santoso, U., Kubo, K., Ota, T., Tadokoro, T., & Maekawa, A. (1996). Nutrient composition of kopyor coconuts (*Cocos nucifera* L.). *Food Chemistry*, 57 (2), 299-304.
- Satin, M., & Amorrighi, G. (1998). Coconut Beverage. Patent. Food and Agriculture Organisation of The United Nations.
- Serrano-Martínez, A., Fortea, M. I., del Amor, F. M., & Núñez-Delicado, E. (2008). Kinetic characterisation and thermal inactivation study of partially purified red pepper (*Capsicum annum* L.) peroxidase. *Food Chemistry*, 107 (1), 193-199.
- Servili, M., Selvaggini, R., Taticchi, A., Begliomini, A. L., & Montedoro, G. (2000). Relationships between the volatile compounds evaluated by solid phase microextraction and the thermal treatment of tomato juice : optimization of the blanching parameters. *Food Chemistry*, 71 (3), 407-415.
- Shantz, E. M., & Steward, F. C. (1952). Coconut milk factor: the growth promoting substances in coconut milk. *Journal of the American Chemical Society*, 74 (23), 6133-6135.
- Shapira, A., Shazman, A., Ungar, Y., & Shimoni, E. (2007). Reducing the formation of glucose degradation products in peritoneal dialysis solutions by ultrahigh temperature ohmic heating. *Molecular Nutrition & Food Research*, 51 (4), 473-478.
- Shivashankar, S. (1991). Biochemical changes during fruit maturation in coconut. *Journal of Plantation Crops*, 19 (2), 102-119.
- Sierra, Z. N., & Velasco, J. R. (1976). Studies on the growth factor of coconut water - Isolation of the growth promoting activity. *The Philippine Journal of Coconut Studies*, 1 (2), 11-18.
- Simpson, D. P., & Stirling, R. (1981). Apparatus for electrically conductive flowable media. EP 32464.
- Singh, H. P. (2003). Promoting coconut products in the global market-problems and challenges. *Indian Coconut Journal*, Juillet, 3-13.
- Sison, B. C. J. (1977). Disposal of coconut processing waste. *The Philippine Journal of Coconut Studies*, 11 (2), 39-41.
- Smith, R. L. (1991). Weibull regression models for reliability data. *Reliability Engineering and System Safety*, 34, 55-77.
- Soderling, E. M., Ekman, T. C., & Taipale, T. J. (2008). Growth inhibition of *Streptococcus mutans* with low xylitol concentrations. *Current Microbiology*, 56 (4), 382-385.

- Srivatsa, A. N., & Sankaran, R. (1995). Preservation of tender coconut water in polymeric pouches and metal cans. *Indian Coconut Journal*, May & June, 13.
- Steiner, I., & Desser, A. (2008). Coconut water - composition, properties and processing. *Ernährung*, 32 (12), 513-516.
- Tanada-Palmu, P., Jardine, J., & Matta, V. (1999). Production of a banana (*Musa cavendishii*) extract containing no polyphenol oxidase by ultrafiltration. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79 (5), 643-647.
- Teixeira, L. A. J., Bataglia, O. C., Buzetti, S., Furlani junior, E., & Dos Santos Isepon, J. (2005). NPK fertilization on Dwarf Green coconut (*Cocos nucifera* L.) - yield and fruit quality. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 27 (1), 120-123.
- Terefe, N. S., Yang, Y. H., Knoerzer, K., Buckow, R., & Versteeg, C. (2010). High pressure and thermal inactivation kinetics of polyphenol oxidase and peroxidase in strawberry puree. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 11 (1), 52-60.
- Tewari, J., Mehrotra, R., & Irudayaraj, J. (2003). Direct near infrared analysis of sugar cane clear juice using a fibre-optic transmittance probe. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, 11, 351-356.
- Thamban, C., Subashbabu, K., Venugopal, R., & Muralidharan, K. (2007). Integrated approach for marketing of minimally processed tender coconuts. *Indian Coconut Journal*, 37 (12), 2-7.
- Thampan, P. K., & Rethinam, P. (2004). Coconut Products for Health and Medicine. *Indian Coconut Journal*, 35 (8), 6-15.
- Thongsook, T., Whitaker, J. R., Smith, G. M., & Barrett, D. M. (2007). Reactivation of broccoli peroxidases: Structural changes of partially denatured isoenzymes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55 (3), 1009-1018.
- Tzeng, E., & Chen, H. E. (1998). Preventing nonenzymatic browning in coconut water during sterilization. *Food Science (Taiwan)*, 25 (3), 304-313.
- Unagul, P., Assantachai, C., Phadungruengluij, S., Suphantharika, M., Tanticharoen, M., & Verduyn, C. (2007). Coconut water as a medium additive for the production of docosahexaenoic acid (C22:6 n3) by *Schizochytrium mangrovei* Sk-02. *Bioresource Technology*, 98 (2), 281-287.
- Uphade, B. K., Shelke, S. S., & Thorat, D. G. (2008). Studies on some physico-chemical characteristics of coconut water near sugar and chemical factory, Kopergaon (M. S.). *International Journal of Chemical Sciences*, 6 (4), 2052-2054.
- Vaillant, F. (2000). *Clarification et concentration de jus de fruits tropicaux pulpeux associant traitements enzymatiques, microfiltration tangentielle et évaporation osmotique*. Thèse de Doctorat, ENSIA, Paris.
- Valderrama, P., Marangoni, F., & Clemente, E. (2001). Effect of thermal treatments on peroxidase (POD) and polyphenoloxidase (PPO) activities of apple (*Mallus comunis*). *Ciencia e Tecnologia de Alimentos*, 21 (3), 321-325.

- Van den Dool, H., & Kratz, P. (1963). A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. *Journal of Chromatography A*, 11, 463-471.
- Van Overbeek, J., Conklin, M. E., & Blakeslee, A. F. (1941). Factors in coconut milk essential for growth & development of very young *Datura* embryos. *Science*, 94, 350-351.
- Vermeulen, K., Strnad, M., Krytof, V., Havlíck, L., Van der Aa, A., Lenjou, M., Nijs, G., Rodrigus, I., Stockman, B., van Onckelen, H., Van Bockstaele, D. R., & Berneman, Z. N. (2002). Antiproliferative effect of plant cytokinin analogues with an inhibitory activity on cyclin-dependent kinases. *Leukemia*, 16 (3), 299-305.
- Viana, F. M. P., Uchoa, C. N., Vieira, I. G. P., Freire, F. C. O., Saraiva, H. A. O., & Mendes, F. N. P. (2008). Minimal processing, modified atmosphere, chemical products and cooling to control post-harvest basal rot of fresh green coconut fruits (*Cocos nucifera*). *Summa Phytopathologica*, 34 (4), 326-331.
- Vikram, V. B., Ramesh, M. N., & Prapulla, S. G. (2005). Thermal degradation kinetics of nutrients in orange juice heated by electromagnetic and conventional methods. *Journal of Food Engineering*, 69 (1), 31-40.
- Walter, E., Kabuki, D., Esper, L., Sant'Ana, A., & Kuaye, A. (2009a). Modelling the growth of *Listeria monocytogenes* in fresh green coconut (*Cocos nucifera* L.) water. *Food Microbiology*, 26 (6), 653-657.
- Walter, E., Nascimento, M., & Kuaye, A. (2009b). Efficacy of sodium hypochlorite and peracetic acid in sanitizing green coconuts. *Letters in applied microbiology*, 49 (3), 366-371.
- Wang, P., Liu, L., Dong, Z., Feng, M., Li, Y., & Tang, L. (2008). Characteristics and mineral elements of tender coconut water in different coconut (*Cocos nucifera* L.) cultivars. *Journal of Fruit Science*, 25 (4), 601-603.
- Wazir, S. K. S. (1997). Technologies on environment-friendly young tender coconuts. In APCC (Ed.), *Proceedings of Cocotech Meeting* (pp. 248). Manila, The Philippines: APCC.
- Wickramasinghe, R. H. (1998-1999). Biomedical and environmental aspects of some coconut-derived products and their production processes in Sri Lanka. *Cocos*, 13, 8-20.
- Wilkins, W. F., & Lin, F. M. (1970). Gas chromatographic and mass spectral analyses of soybean milk volatiles. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 18 (3), 333-336.
- Woodroof, J. G. (1970). Coconut storage and processing, and minor uses of products of the coconut tree. In AVI (Ed.), *Coconuts: production, processing, products* (pp. 241). Westport.

- Yong, J. W. H., Liya, G., Fei, N. Y., & Ngim, T. S. (2009). The chemical composition and biological properties of coconut (*Cocos nucifera* L.) water. *Molecules*, 14 (12), 5144-5164.
- Yu, Z. R., Chiang, B. H., & Hwang, L. S. (1986). Retention of passion fruit juice compounds by ultrafiltration. *Journal of Food Science*, 51 (3), 841-842.
- Zarate-Rodriguez, E., Ortega-Rivas, E., & Barbosa-Canovas, G. V. (2001). Effect of membrane pore size on quality of ultrafiltered apple juice. *International Journal of Food Science and Technology*, 36, 663-667.
- Zhang, Z. Y., & Pawliszyn, J. (1993). Headspace solid-phase microextraction. *Analytical Chemistry*, 65 (14), 1843-1852.

ANNEXES

Tableau 18. Caractéristiques physicochimiques de l'eau de coco des variétés GOA (Grand Ouest Africain), PB121 (Port-Bouët121, hybride issu d'un croisement NJM x GOA), NJM (Nain Jaune de Malaisie), NVE (Nain Vert de Guinée Equatoriale), NVT (Nain Vert de Thaïlande) aux trois stades de récolte 7, 8 et 9 mois : **lot EVM**

Variété	GOA				PB121				NJM				NVE				NVT			
	7	8	9	Moyenne	7	8	9	Moyenne	7	8	9	Moyenne	7	8	9	Moyenne	7	8	9	Moyenne
Stade de récolte (mois)																				
Poids (kg)	0,131	0,128	0,112	0,124^a	0,445	0,243	0,261	0,316^b	0,336	0,243	0,201	0,260^b	0,208	0,111	0,232	0,183^a	0,214	0,202	0,219	0,211^a
Pourcentage massique d'eau par noix (%)	7,6	9,7	7,8	8,4^a	22,9	12,3	12,7	16,0^a	21,2	9,4	15,5	15,4^a	11,1	6,2	15,1	10,8^a	8,7	12,0	12,0	10,9^a
pH	5,5	5,65	5,48	5,5^a	4,95	5,19	nd	5,1^a	4,8	5,1	5,4	5,1^a	4,7	5,1	nd	4,9^a	5,5	5,5	5,4	5,5^a
O ₂ dissous à 20°C (% saturation)	28	22	35	28^a	32	30	34	32^a	30	24	28	27^a	29	41	nd	35^a	20	31	14	22^a
Conductivité électrique (S.m ⁻¹)	0,73	0,73	0,80	0,75^a	0,60	0,71	0,70	0,67^b	0,51	0,50	0,53	0,51^{bc}	0,52	0,49	nd	0,51^{bc}	0,53	0,55	0,57	0,55^{bc}
ESS (g.kg ⁻¹)	56	54	54	55^a	50	56	54	53^a	64	66	64	65^b	62	64	66	64^b	60	56	62	59^b
Acidité titrable (mEq.L ⁻¹)	1,1	1,2	1,5	1,3^a	1,0	1,3	1,4	1,2^a	1,0	0,9	1,1	1,0^b	0,9	0,8	0,9	0,9^b	0,9	0,9	1,0	0,9^b
Turbidité (FTU)	197,5	98,5	136,1	144,0^a	9,9	31,4	54,0	31,8^b	14,3	15,8	75,0	35,0^b	16,3	141,0	103,5	86,9^a	14,0	25,0	46,9	28,6^b
Activité PPO (U.mL ⁻¹)	12,4	2,8	1,1	5,4^a	13,3	16,8	24,0	18,0^b	25,1	24,9	25,9	25,3^b	11,4	19,3	11,6	14,1^{bc}	16,5	14,3	6,8	12,5^{abc}
Activité POD (U.mL ⁻¹)	172,6	147,0	204,8	174,8^a	0,7	0,7	53,5	18,3^b	29,6	51,0	191,9	90,8^a	15,3	16,8	64,5	32,2^b	67,2	30,5	78,9	58,8^b
Indice de saveur sucrée SI	44,5	37,5	33,6	38,5^a	47,2	41,6	37,7	42,2^{ab}	67,2	57,4	44,5	56,4^{cd}	66,3	74,7	57,7	66,2^d	50,1	45,0	50,2	48,4^{abc}
Galactose (g.L ⁻¹)	1,7	3,2	2,1	2,3^a	0,0	0,8	1,7	0,8^b	0,0	0,5	0,6	0,4^b	0,0	0,3	0,8	0,4^b	0,3	0,4	1,6	0,8^b
Sorbitol (g.L ⁻¹)	3,9	6,7	13,5	8,0^a	0,0	1,8	2,8	1,5^b	0,1	1,0	0,9	0,7^b	0,1	0,7	1,5	0,7^b	0,8	1,4	3,5	1,9^b
Glucose (g.L ⁻¹)	20,1	14,1	7,2	13,8^a	25,4	19,0	17,6	20,7^a	31,5	26,2	19,0	25,5^b	32,3	33,4	23,8	29,9^b	23,1	21,4	22,0	22,2^a
Fructose (g.L ⁻¹)	13,5	8,1	5,3	9,0^a	19,5	12,7	11,1	14,4^{ab}	27,6	20,0	15,6	21,1^{bc}	28,4	28,5	20,2	25,7^{bc}	20,4	14,8	14,0	16,4^{ab}
Saccharose (g.L ⁻¹)	9,9	12,5	13,3	11,9^a	3,4	10,1	8,5	7,3^a	8,7	11,9	10,1	10,2^a	6,3	13,4	13,6	11,1^a	6,7	9,3	13,6	9,9^a
Sucres solubles totaux (g.L ⁻¹)	49,3	44,7	41,7	45,2^a	48,4	44,5	42,0	44,9^{ab}	68,1	59,7	46,2	58,0^{cd}	67,2	76,4	60,0	67,8^d	51,4	47,5	54,9	51,3^{abc}

Les lettres différentes sur une même ligne indiquent des différences significatives à un niveau de confiance de 95% (test LSD sur intervalle de confiance)

Tableau 19. Caractéristiques physicochimiques de l'eau de coco de la variété NVE (Nain Vert de Guinée Equatoriale) aux stades de récolte 7 et 9 mois : **Lot ES**

<i>Variété</i> <i>Origine</i> <i>Stade de récolte (mois)</i>	NVE Côte d'Ivoire	
	7	9
Poids d'eau (kg)	0,3932 ± 0,0001	0,3872 ± 0,0001
Pourcentage massique d'eau par noix (%)	20,5 ± 0,1	17,9 ± 0,1
pH	5,41 ± 0,02	5,72 ± 0,02
O ₂ dissous à 20°C (mg.L ⁻¹)	4,67 ± 0,02	4,14 ± 0,02
Conductivité électrique (S.m ⁻¹)	0,48 ± 0,02	0,57 ± 0,02
ESS (g.kg ⁻¹)	58 ± 2	58 ± 2
Acidité titrable (mEq.L ⁻¹)	0,8 ± 0,1	1,0 ± 0,1
Turbidité (FTU)	6,5 ± 0,5	10,0 ± 0,5
Activité PPO (U.mL ⁻¹)	15,3 ± 0,8	19,3 ± 0,9
<i>Moyenne ± écart-type</i>		

Annexe 2

Photos des pilotes de chauffage ohmique et de traitement membranaire

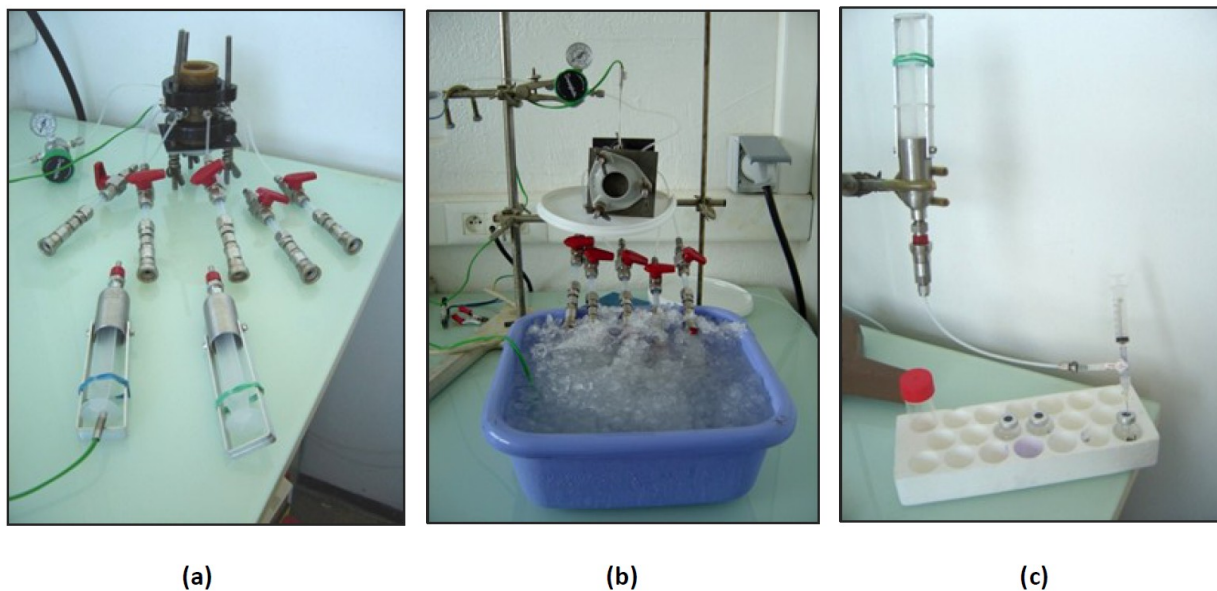


Figure 55. Photos du réacteur à chauffage ohmique avant montage (a), en fonctionnement (b) et système de collecte de l'échantillon (c)

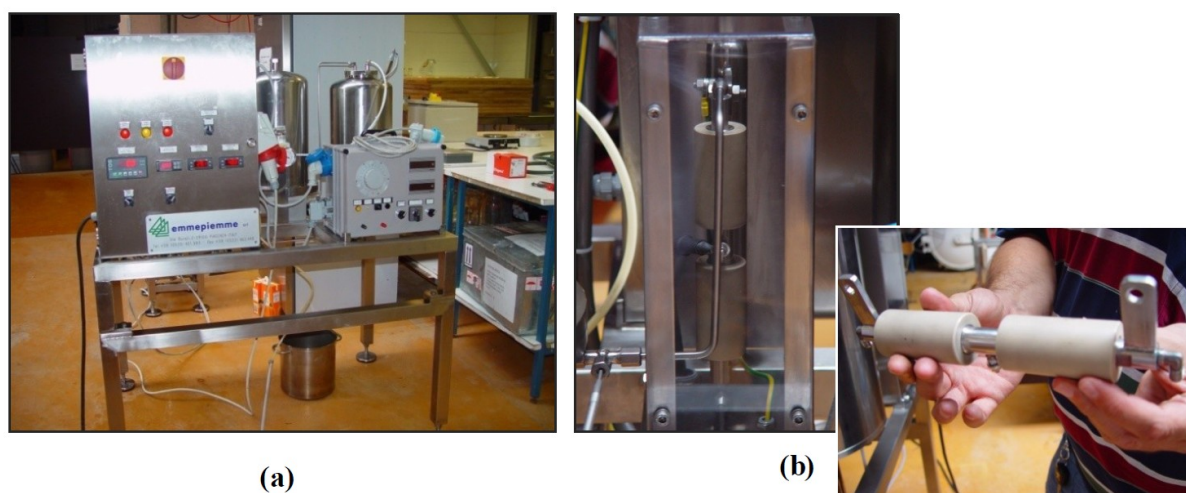


Figure 56. Photos du pilote de chauffage ohmique fonctionnant en mode continu (a) et cellule de chauffage ohmique (b)



Figure 57. Photo du pilote de traitement membranaire

Annexe 3

Poster présenté à ICEF10

Prades A., Assa R. R., Dornier M. & Pain J. P. (2008). Near infrared spectroscopy: a tool for on-line monitoring of beverage quality [Poster]. *In: ICEF 10 / Tenth International Congress on Engineering and Food, Viña del Mar, Chile, April 20 - 24, 2008.*

Near Infrared Spectroscopy (NIRS): a tool for on-line monitoring of beverage quality

PRADES Alexia¹, ASSA Rebecca Rachel², DORNIER Manuel¹, PAIN Jean-Pierre³

¹CIRAD, UMR Qualisud, 73 rue JF Breton, Montpellier, F-34398 France.
²CNRA, Programme Cocotier, 07 BP 13 Abidjan 07, Côte d'Ivoire.
³UMI2, UMR Qualisud, Place E. Bataillon, Montpellier, F-34095 France

CONTACT: alexia.prades@cirad.fr



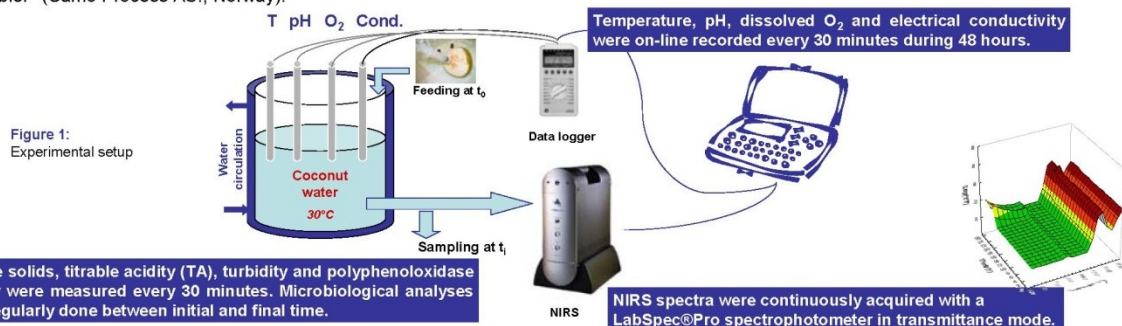
Coconut water (CW) is a tropical drink known for its refreshing and isotonic properties¹. It is a fragile liquid subjected to rapid deterioration². As a consequence, assessing its quality during processing and storage still remains a challenge.



Among other food quality control methods, Near Infrared Spectroscopy (NIRS), a simple and non destructive analytical tool, should be a good challenger³. This study set out to determine if NIRS could monitor coconut water quality during storage at tropical ambient temperature.

Material and Methods

Immature coconut fruits (Guinea Equatorial Green Dwarf variety from Côte d'Ivoire) were harvested at two grades of maturity (7 and 9 months old). Aseptically collected CW was homogenised and stored into a 2 litres glass reactor (Fig1). The liquid temperature was maintained at 30±0.5°C using a double jacket water circulation. Data processing was performed using descriptive statistics and principal component analysis (PCA) with The Unscrambler® (Camo Process AS., Norway).

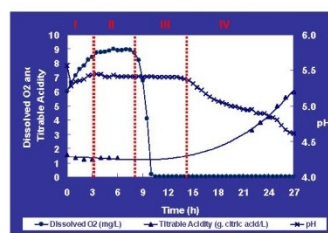


Results and discussion

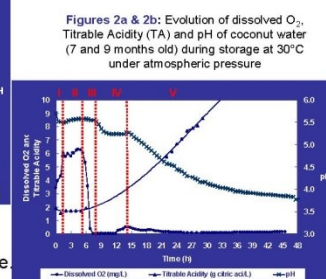
The monitoring of physicochemical parameters showed that CW deterioration encountered at least four stages for both grades of maturity:

- (I) a first stage where dissolved O₂ increased by 3 mgL⁻¹ whereas pH and TA showed a slight decrease,
- (II) a second stable stage,
- (III) a third stage where dissolved O₂ fall down to 0 mgL⁻¹ whereas TA began to rise,
- (IV) a fourth stage where pH and TA showed clear antagonistic trends,
- (V) a fifth stage (observed only on 9 months old nuts) where pH tend to stabilize around 3.8 and TA rose until 15 g citric acid.L⁻¹.

Main changes occurred during the first day (0 to 21hours) and especially during the first 10 hours of CW storage.



2a : 7 months old coconut water



2b : 9 months old coconut water

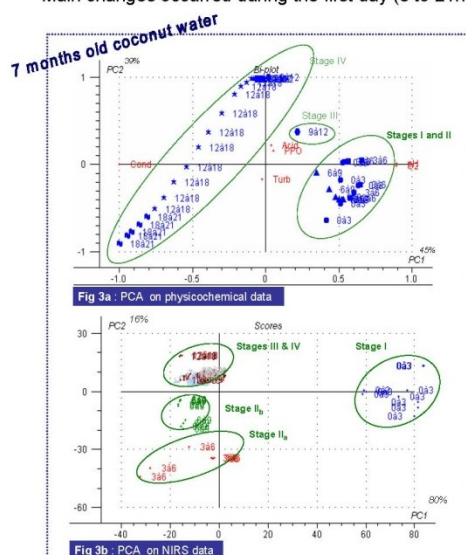


Fig 3a : PCA on physicochemical data

Fig 3b : PCA on NIRS data

The previous stages were highlighted by PCA performed on physicochemical and NIR spectral data.

The first two principal components of the PCA performed on physicochemical data of the 7 and 9 months old CW (Fig. 3a and 4a) explained respectively 75% and 73% of the total variance. However those from PCA performed on spectral data explained 96% and 99% (Fig. 3b and 4b).

For 7 months old coconut water, PCA performed on NIR spectral data distinguished two phases during Stage II (Fig 3b) suggesting that NIRS monitoring was more sensitive than physicochemical monitoring.

For 9 months old coconut water, although Stages I and II were not separated (Fig 4b), other stages were more clearly identified by spectral than by physicochemical monitoring.

Microbiological analyses confirmed the sterility of CW at initial time and later showed the prevalence of bacteria (over yeasts and moulds) due to environmental contamination.

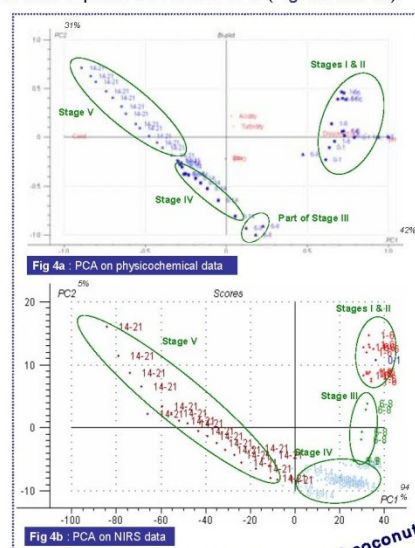


Fig 4a : PCA on physicochemical data

Fig 4b : PCA on NIRS data

Conclusion and perspectives

- The potential of NIRS for on-line monitoring of coconut water quality was demonstrated : 1 NIRS "fingerprint" is equivalent to 7 measurements of physicochemical parameters
- Further chemometric analyses and experiments may correlate spectral and chemical data to predict CW quality during storage

References

- ¹Rethinam P. and Kumar T. B. N. (2001). Tender coconut - an overview. Indian Coconut Journal 32(1): 2-22.
- ²Matsui K. N., Granado L. M., de Oliveira P.V., Tadini C.C. (2007). Peroxidase and polyphenol oxidase thermal inactivation by microwaves in green coconut water simulated solutions. LWT - Food Science and Technology 40(5): 852-859.
- ³Davieux F., Prades A. et al. (2005). Physico-chemical changes in the fruits of two coconut (*Cocos nucifera* L.) hybrids during ripening : A NIRS-boosted study. In : FRUTIC 05, 7th Fruit, nut and vegetable production engineering Symposium: Information and technology for sustainable fruit and vegetable production, Montpellier, France, 12-16 September 2005.